

Aus dem Institut für Rechtsmedizin Rostock  
Direktor: Herr Univ.-Prof. Dr. med. Andreas Büttner

# Entwicklung und Validierung von LC-ESI- MS/MS-Multikomponentenmethoden zum Nachweis von neuen psychoaktiven Substanzen

Inauguraldissertation  
zur Erlangung des akademischen Grades  
Doktor der Medizinwissenschaften  
der Universitätsmedizin Rostock

vorgelegt von

Christine Lehmann, geb. am 15.06.1990 in Beeskow

Rostock, August 2020

[https://doi.org/10.18453/rosdok\\_id00003018](https://doi.org/10.18453/rosdok_id00003018)

**Gutachter:**

Univ.-Prof. Dr. med. Andreas Büttner, Universitätsmedizin Rostock, Institut für Rechtsmedizin

OA PD Dr. med. Sven Hartwig, Charité – Universitätsmedizin Berlin, Institut für Rechtsmedizin

PD Dr. med. Udo Walther, Universitätsmedizin Rostock, Institut für Pharmakologie und Toxikologie

**Jahr der Einreichung:** 2020

**Jahr der Verteidigung:** 2021

## Selbstständigkeitserklärung

Ich versichere, dass ich die hier eingereichte Dissertation selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe. Andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel wurden nicht benutzt. Die den benutzten Quellen wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen sind als solche von mir kenntlich gemacht worden.

Märkisch Buchholz, den 03.08.2020

Christine Lehmann

### Danksagung

Zuvorderst möchte ich mich bei meiner Betreuerin Frau Dr. Ricarda Kegler für die Unterstützung bei der Themenfindung sowie der Erstellung dieser Arbeit bedanken. Des Weiteren danke ich meinem Kollegen Herrn Dr. Daniel Rentsch für die fachliche Unterstützung. Eure Erfahrung, Motivation und Ratschläge haben mich geprägt und soweit voran gebracht, dass dieses Dissertationsvorhaben absolviert werden konnte.

Bei Herrn Professor Büttner bedanke ich mich für die Möglichkeit in seinem Institut wiederholt eine Abschlussarbeit über ein sehr interessantes Thema erarbeiten zu können und ein Teil des harmonischen Miteinanders unter den jungen / junggebliebenen, dynamischen Institutsangehörigen gewesen zu sein. Diese schöne Zeit wird mir immer in Erinnerung bleiben.

Ohne die zeitlichen Freiräume, die mir die „neuen“ Kollegen des Brandenburgischen Landesinstitutes für Rechtsmedizin Herr Dr. Peter Böhme und Herr Dipl.-Chem. Steffen Weniger eingeräumt haben, wäre die Fertigstellung der Arbeit niemals so reibungslos abgelaufen. Vielen Dank, dass ihr mir den Rücken freigehalten habt.

Mein Dank gilt abermals der gesamten Abteilung der Toxikologie und Blutalkoholuntersuchungsstelle des Institutes für Rechtsmedizin: Frau Dittrich, Frau Engler, Frau Glashagen und Herrn Einsle für eine tolle Zusammenarbeit und eine sehr harmonische Arbeitsatmosphäre, die ich jedes Mal aufs Neue genieße und schätze.

Ein besonderes Dankeschön gilt meinen engagierten Korrekturlesern Isabell und Franzi, die mit Akribie und Durchhaltevermögen diese Arbeit kritisch begutachtet haben.

Den größten Anteil und Einfluss auf mich und meinen Werdegang hat meine Familie! Ein intaktes, harmonisches Familienleben bildet die Basis für die persönliche Entwicklung und hat mich geprägt. Ihr habt mir in der gesamten Zeit immer den Rücken gestärkt - ob moralisch oder finanziell. Die Unterstützung, die Motivationsschübe, die willkommene sowie den Kopf befreiende Ablenkung vom Studienalltag von Seiten meiner Eltern, Christoph sowie meiner gesamten Familie war Gold wert und ohne diese hätte ich mein Studium nie so zielorientiert und reibungslos absolvieren können.



## Inhaltsverzeichnis

Selbstständigkeitserklärung.....	I
Danksagung .....	II
Inhaltsverzeichnis.....	III
I. Abkürzungsverzeichnis.....	V
II. Abbildungsverzeichnis.....	VI
III. Tabellenverzeichnis.....	VIII
1. Einleitung .....	1
1.1 Vorbetrachtungen .....	1
1.2 Synthetische Cannabinoide .....	3
1.3 Synthetische Cathinone .....	8
1.4 Benzodiazepine/Z-Substanzen .....	11
1.5 Falldarstellungen der letal verlaufenen Intoxikationen.....	15
1.6 Massenspektrometrie .....	14
2. Fragestellungen.....	17
3. Material und Methoden.....	18
3.1 Chemikalien.....	18
3.2 Referenzsubstanzen.....	18
3.3 Proben aus behördlichen Sicherstellungen.....	20
3.4 Humanes Probenmaterial .....	20
3.5 Verbrauchsmaterialien .....	21
3.6 Geräte .....	21
3.7 Herstellung der Lösungen und Eluenten .....	23
3.7.1 Lösungen zur Probenaufarbeitung und Fließmittel.....	23
3.7.2 Herstellung der Standardlösungen aus den Referenzsubstanzen .....	23
3.8 Entwicklung von LC-ESI-MS/MS-Methoden zur Quantifizierung von 16 SCRA, 26 Cathinonen und 39 BZD/Z-Drugs aus Serumproben.....	24
3.8.1 Probenvorbereitung der SCRA, Cathinone und BZD/Z-Drugs.....	24
3.8.2 Responsefaktoren.....	27
3.8.3 Chromatographische Bedingungen .....	27
3.9 Methodvalidierung der LC-ESI-MS/MS-Methoden zum Nachweis von SCRA's, Cathinonen und BZD/Z-Drugs.....	30
3.9.1 Bestimmung der Selektivität und Spezifität .....	31
3.9.2 Bestimmung der Linearität, Genauigkeit und Stabilität .....	31
3.9.3 Bestimmung der analytischen Kenngrößen.....	31
3.10 Qualitative Analytik der Substanzproben .....	33
3.10.1 Probenvorbereitung Stoffproben .....	33
3.10.2 GC-MS-Methode.....	34
3.10.3 NMR-Analytik.....	35

---

3.11	Quantitative Analytik der synthetischen Cannabinoide aus Stoffproben mittels HPLC-DAD .....	35
4.	Ergebnisse .....	37
4.1	Entwicklung und Validierung von LC-ESI-MS/MS-Methoden für die Bestimmung von SCRA, Cathinonen und BZD/Z-Drugs .....	37
4.1.1	Entwicklung und Validierung einer LC-ESI-MS/MS-Methode für SCRA .....	37
4.1.2	Entwicklung und Validierung einer LC-ESI-MS/MS-Methode für Cathinone .....	43
4.1.3	Entwicklung und Validierung einer LC-ESI-MS/MS-Methode für BZD/Z-Drugs.....	50
4.2	Realfälle .....	60
4.2.1	Analytik von SCRA in humanen Probenmaterial bei letal verlaufenden Intoxikationen.....	60
4.2.2	Nachweis von Methylon in Serumproben von Konsumenten.....	65
4.2.3	Nachweis von BZD/Z-Drugs in Serumproben sowie in Haaren mittels LC-ESI-MS/MS.....	66
4.3	Analyse der unbekannten Substanzproben.....	70
4.3.1	Qualitative und quantitative Analyse der synthetischen Cannabinoide aus Stoffproben .....	71
4.3.2	Qualitative Analyse von Stoffproben in Form von Kräutermaterialien und „Research Chemicals“ .....	75
5.	Diskussion .....	80
5.1	Etablierung und Validierung von LC-ESI-MS/MS-Methoden zum Nachweis von SCRA, Cathinonen und BZD/Z-Drugsn im Serum.....	80
5.2	Analyse von 5F-ADB in humanem Probenmaterial bei letal verlaufenden Intoxikationen .....	83
5.3	Analyse von Stoffproben.....	86
6.	Zusammenfassung und Ausblick .....	94
7.	Literaturverzeichnis .....	97
8.	Anhang.....	104
8.1	Standardsubstanzen und deren Hersteller/Herkunft.....	104
8.2	Namen, Struktur- und Summenformeln sowie die monoisotopischen Massen der detektierten Substanzen .....	107
8.3	Substanzen, dazugehörige interne Standards und ermittelte Responsefaktoren ..	135
8.4	Detaillierte Validierungsergebnisse der LC-ESI-MS/MS-Methoden zum Nachweis von SCRA, Cathinonen und BZD/Z-Drugsn in Serumproben .....	137
8.5	Publikationsliste .....	154

## I. Abkürzungsverzeichnis

<b>4-MMC</b>	Mephedron (4-Methylmethcathinon)
<b>AA</b>	Essigsäure
<b>ACN</b>	Acetonitril
<b>AL</b>	Arbeitslösung
<b>BtMG</b>	Betäubungsmittelgesetz
<b>BuCl</b>	1-Chlorbutan
<b>BZD/Z-Drugs</b>	Benzodiazepin(e)/Z-Substanzen
<b>C</b>	Konzentration
<b>DAD</b>	Diodenarraydetektor
<b>EA</b>	Ethylacetat
<b>ESI</b>	Elektrospray-Ionisation
<b>GC-MS</b>	Gaschromatographie-Massenspektrometrie
<b>GTFCh</b>	Gesellschaft für Toxikologische und Forensische Chemie
<b>h</b>	Stunde
<b>HB</b>	Herzblut
<b>HPLC</b>	High-performance liquid chromatography (Hochleistungsflüssigkeitschromatographie)
<b>i.d.</b>	inner diameter (innerer Durchmesser)
<b>ISTD</b>	interner Standard
<b>LLE</b>	Liquid-liquid extraction (Flüssig-Flüssig-Extraktion)
<b>m/z</b>	Masse/Ladung
<b>MeOH</b>	Methanol
<b>min</b>	Minute
<b>MS/MS</b>	Tandemmassenspektrometrie
<b>MW</b>	Mittelwert
<b>NMR</b>	Nuclear Magnetic Resonance Spectrometry (Kernresonanzspektrometrie)
<b>NpS (G)</b>	Neue psychoaktive Stoffe (Gesetz)
<b>OSV</b>	Oberschenkelvenenblut
<b>QC</b>	Qualitätskontrollprobe(n)
<b>R<sup>2</sup></b>	Bestimmtheitsmaß
<b>Rf</b>	Responsefaktor
<b>rpm</b>	rounds per minute (Umdrehungen pro Minute)
<b>SCRA</b>	Synthetische(r) Cannabinoid Rezeptor Agonist(en)
<b>STABW</b>	Standardabweichung
<b>t<sub>R</sub></b>	Retentionszeit
<b>UV-VIS</b>	Ultravioletter/visueller Lichtbereich

## II. Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Übersicht der neu gemeldeten Substanzen an das Frühwarnsystem der EMCDDA von 2005 bis 2018 (entnommen aus dem Europäischen Drogenbericht 2019 [2])...	2
Abb. 2: Potpourri der sichergestellten Kräutermischungen mit den Strukturformeln von potentiellen Inhaltsstoffen .....	3
Abb. 3: Strukturelemente der SCRA am Beispiel von 5F-ADB.....	5
Abb. 4a-c: Kernstrukturen von SCRA-Typen [23] .....	7
Abb. 5: Struktur des Cathinon (2-Amino-1-phenyl-1-propanon) links und Catha Edulis rechts [29].....	8
Abb. 6: Beispiele für gehandelte „Research Chemicals“ .....	9
Abb. 7: Grundstrukturen des Cathinons (a) und des 2-Phenethylamins (b), welche im NpSG von 2016 verankert sind [23] .....	10
Abb. 8: Strukturformeln von Diazepam (1,4-BZD), Clobazam (1,5-BZD) und Alprazolam (Triazolring mit Methylgruppe am C <sub>1</sub> ) [36].....	12
Abb. 9: Wirkungsmechanismus der BZD/Z-Drugs am GABA <sub>A</sub> -Rezeptor und Wirkungen der GABA <sub>A</sub> - Untereinheiten [36] .....	13
Abb. 10: LC-Flussgradienten der drei LC-ESI-MS/MS-Methoden .....	30
Abb. 11: LC-ESI-MS/MS-Chromatogramm der optimierten Methode zum Nachweis von SCRA .....	39
Abb. 12: Extraktionsausbeuten für SCRA nach LLE mit BuCl und Zusätzen als Extraktionsmittel .....	40
Abb. 13: Kalibrierfunktion und Bestimmtheitsmaß von 5F-ADB im Serum (n=6).....	41
Abb. 14: LC-ESI-MS/MS-Chromatogramm der optimierten Methode zum Nachweis von Cathinonen .....	44
Abb. 15: Kalibrierfunktion und Bestimmtheitsmaß von Methylon im Serum (n=6) .....	48
Abb. 16: LC-ESI-MS/MS-Chromatogramm der optimierten Methode zum Nachweis von BZD/Z-Drugs.....	55
Abb. 17: Vergleich verschiedener Extraktionsmethoden anhand der Signalfläche (entnommen aus der Diplomarbeit von Felicia Möller [49]).....	56
Abb. 18: Kalibrierfunktion und Bestimmtheitsmaß von Clonazepam im Serum (n=6).....	57
Abb. 19: GC-MS-Chromatogramm des Bonginhaltes mit Massenspektrum des identifizierten 5F-ADB und dessen Vergleichsmassenspektrums der Cayman Bibliothek [52] .....	61

Abb. 20: Spezifische Massenübergänge von 5F-ADB in der LC-ESI-MS/MS-Methode unter Verwendung der ShimPack FC-ODS-Säule.....	62
Abb. 21: Kalibrierung mit Analysenfunktion und Bestimmtheitsmaß für 5F-ADB aus Vollblut.....	62
Abb. 22: 5F-ADB-Konzentrationen in den untersuchten Körperflüssigkeiten und Organhomogenaten des dritten Todesfalls .....	64
Abb. 23: Verteilung der 5F-ADB Metaboliten 5-Hydroxypentyl- und Esterhydrolyse-Produkt in den untersuchten Körperflüssigkeiten und Organhomogenaten des dritten Todesfalls. Links: Hydroxypentyl-Struktur, rechts: Esterhydrolyse-Produkt nach Barcelo et al. [57].....	65
Abb. 24: Ergebnisse der mittels GC-MS und LC-ESI-MS/MS gemessenen 22 Serumproben zum Nachweis von Methylon .....	66
Abb. 25: Beispiele der zu untersuchenden sichergestellten Substanzproben, hier „Research Chemicals“ .....	71
Abb. 26: Anteil der acht verschiedenen SCRA in den sichergestellten 222 Kräuterpäckchen .....	71
Abb. 27: EI-Massenspektren sowie mögliche Fragmentierungsmuster anhand der Strukturformeln von 5F-ADB und 5F-MDMB-PICA.....	72
Abb. 28: UV-Spektren von 5F-ADB und 5F-MDMB-PICA mittels HPLC-DAD .....	72
Abb. 29: GC-MS-Chromatogramm (rotes Signal) und <sup>1</sup> H-NMR-Spektrum von Mexedron .....	76
Abb. 30: Struktureller Unterschied (rot markiert) zwischen ADB-FUBINACA und AMB-FUBINACA .....	77
Abb. 31: Häufigkeit der verschiedenen Stoffgruppen in den 260 sichergestellten Stoffproben .....	78
Abb. 32: Struktur und Rezeptorpotential von Valinat- und <i>tert</i> -Leucinat-Gruppen [11] .....	87
Abb. 33a-j: Strukturerweiterungen für SCRA, die seit Juli 2019 dem NpSG unterstellt sind [40].....	91
Abb. 34a-p: Kernstrukturen von BZD, die seit Juli 2019 dem NpSG unterstellt sind [40].....	92
Abb. 35: Zeitraum der im Institut für Rechtsmedizin Rostock analysierten SCRA und der rechtlichen Einordnung .....	93

### III. Tabellenverzeichnis

Tab. 1: Übersicht über die sichergestellten SCRA in der EU, Norwegen und Türkei im Jahr 2017 [7].....	4
Tab. 2: Übersicht über die Potenzen und die vorgeschlagenen Grenzwerte der "nicht-geringen Menge" der in dieser Arbeit relevanten SCRA [28].....	7
Tab. 3: Übersicht über die sichergestellten Cathinone in der EU, Norwegen und Türkei im Jahr 2017 [7].....	9
Tab. 4: Übersicht über die vorgeschlagenen Grenzwerte der "nicht-geringen Mengen" der in dieser Arbeit relevanten Cathinone [30] .....	11
Tab. 5: Übersicht über die sichergestellten BZD/Z-Drugs in der EU, Norwegen und der Türkei im Jahr 2017 [7] .....	12
Tab. 6: Für die Versuchsdurchführungen verwendete Chemikalien und Lösungsmittel .....	18
Tab. 7: Standardsubstanzen aus der Gruppe der synthetischen Cannabinoide und deren Bezugsquellen .....	19
Tab. 8: Für die Versuchsdurchführungen verwendete Verbrauchsmaterialien .....	21
Tab. 9: Verwendete Analysensysteme und Software für die praktischen Arbeiten.....	21
Tab. 10: Durchgeführte Extraktionsversuche für die SCRA-Bestimmung aus Serum.....	25
Tab. 11: Parametereinstellung der LC-ESI-MS/MS-Methode für SCRA.....	28
Tab. 12: Parametereinstellung der LC-ESI-MS/MS-Methode für Cathinone .....	28
Tab. 13: Parametereinstellung der LC-ESI-MS/MS-Methode für BZD/Z-Drugs.....	29
Tab. 14: Konzentrationen der Kalibratoren und QC für die drei LC-ESI-MS/MS Methoden...	32
Tab. 15: Analysenparameter der qualitativen GC-MS-Methode.....	34
Tab. 16: Kalibrationsbereiche der neun zu quantifizierenden SCRA.....	36
Tab. 17: Übersicht der Retentionszeiten, MRM-Übergänge und der optimierten MS/MS-Parameter .....	37
Tab. 18: Kalibrierbereich, LOD und LLOQ der SCRA mittels LC-ESI-MS/MS-Methode für Serumproben .....	42
Tab. 19: Übersicht der Retentionszeiten, MRM-Übergänge und der optimierten MS/MS-Parameter .....	44
Tab. 20: Kalibrierbereiche, LOD und LLOQ der Cathinone mit LC-ESI-MS/MS-Methode für Serumproben .....	49
Tab. 21: Übersicht der Retentionszeiten, MRM-Übergänge und optimierten MS/MS-Parameter .....	50

Tab. 22: Kalibrierbereiche, LOD und LLOQ der validierten BZD/Z-Drugs mittels LC-ESI-MS/MS-Methode im Serum.....	58
Tab. 23: 5F-ADB-Konzentrationen im Herzblut (HB) und Oberschenkelvenenblut (OSV) von den 4 Todesfällen.....	63
Tab. 24: Ergebnisse der Ringversuche BZF 2/18 und BZF 3/19, ermittelt mit der validierten LC-ESI-MS/MS-Methode für BZD/Z-Drugs .....	68
Tab. 25: Ermittelte Konzentrationen von BZD/Z-Drugs mittels HPLC-DAD und LC-ESI-MS/MS in 13 Patientenproben (Auszug) [49] .....	69
Tab. 26: Retentionszeiten der acht SCRA für die HPLC-DAD-Methoden .....	73
Tab. 27: Spannweiten, Mediane und Mittelwerte der Substanzgehalte der jeweiligen Chargen von den SCRA mit mehr als zwei Chargen .....	74
Tab. 28: Gesamtwirkstoffgehalte, Gesamtmassen der Päckchen und vorgeschlagene Grenzwerte der „nicht-geringen Menge“ für die acht SCRA [28] .....	75
Tab. 29: Übersicht über die identifizierten Substanzen in den 260 sichergestellten Stoffproben und deren Häufigkeit.....	77
Tab. 30: Vergleich der ermittelten Konzentrationen von 5F-ADB im humanen Asservatmaterial zwischen Fall 3 und dem publizierten Todesfall [86] .....	84
Tab. 31: Cluster-Analyse von Fällen mit gesundheitlichen Risiken, ernsthaften toxischen Wirkungen und/oder Todesfällen mit SCRA in den USA [Auszug,[100]].....	88
Tab. 32: Synthetische Cathinone und deren Bezugsquellen.....	104
Tab. 33: BZD/Z-Drugs und deren Bezugsquellen .....	105
Tab. 34: Namen, Struktur- und Summenformeln sowie die monoisotopischen Massen der Substanzen.....	107
Tab. 35: Detektierte Substanzen und die ermittelten Responsefaktoren der dazugehörigen Standards .....	135
Tab. 36: Regressionsfunktionen, Bias und Präzision der SCRA .....	138
Tab. 37: Wiederfindungsraten, Extraktionsausbeuten und Matrixeffekte der SCRA.....	139
Tab. 38: Regressionsfunktionen, Bias und Präzision der Cathinone.....	141
Tab. 39: Wiederfindungsraten, Extraktionsausbeuten und Matrixeffekte der Cathinone .....	144
Tab. 40: Regressionsfunktionen, Bias und Präzision der BZD/Z-Drugs .....	146
Tab. 41: Wiederfindungsraten, Extraktionsausbeuten und Matrixeffekte der BZD/Z-Drugs.....	150

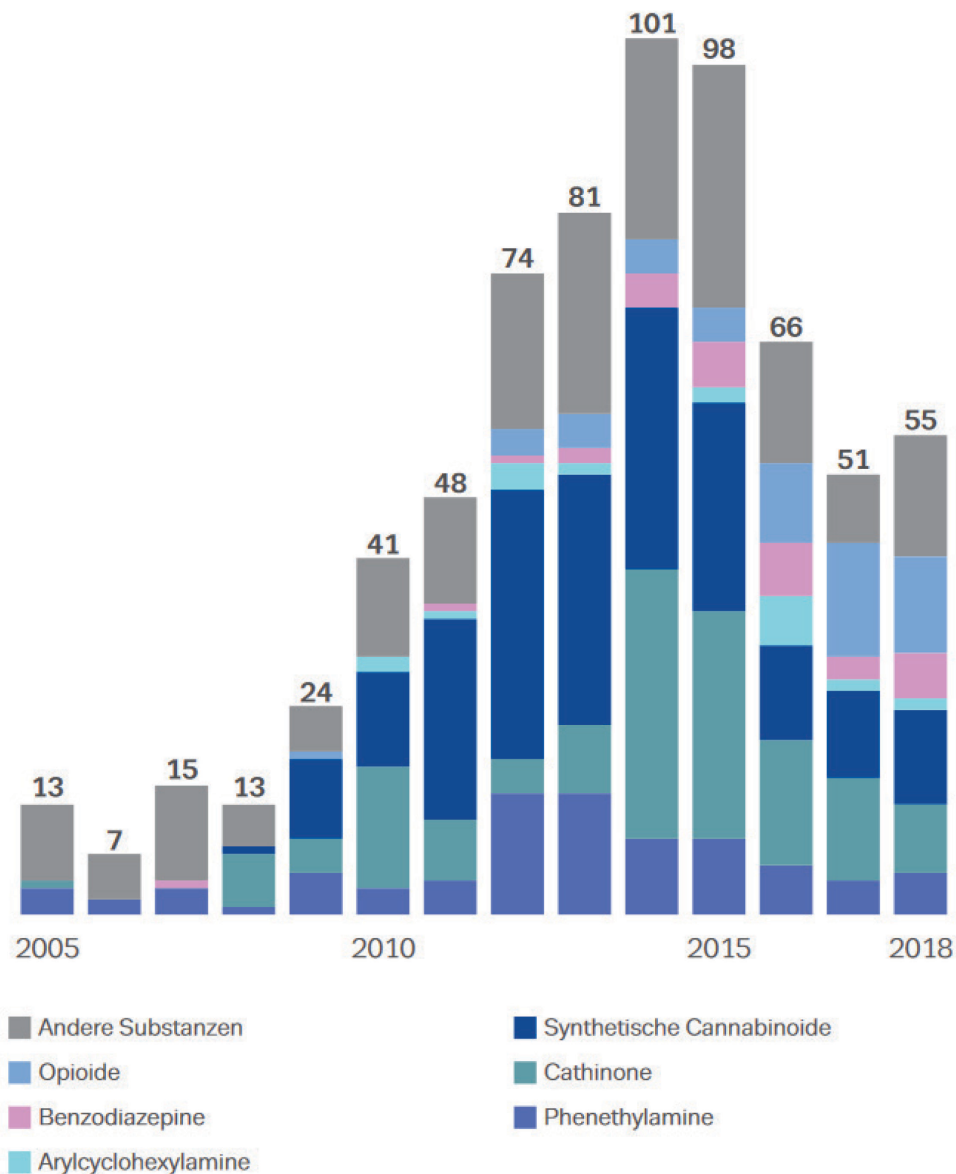
# 1. Einleitung

## 1.1 Vorbetrachtungen

Neue psychoaktive Stoffe (NpS) spielen heutzutage weltweit eine bedeutende Rolle, da die Nachfrage an psychoaktiv wirkenden Stoffen, die bei Erscheinen zunächst legal sind, und zum Teil „besser“ wirken als die „altbekannten“ bzw. traditionellen Suchstoffe, gerade bei Jugendlichen und Erwachsenen sehr hoch ist. Die Verfügbarkeit und Beschaffung stellen im Internetzeitalter kein Problem dar. Sie werden als „Legal Highs“, „Research Chemicals“ oder „Nahrungsergänzungsmittel“ verkauft. NpS werden auch als Zusatz in oder als Ersatz von gesetzlich reglementierten Drogen (z.B. in Cocain, Heroin) sowie als „Fake Medicine“ (z.B. Designer-Benzodiazepine) gehandelt. Die meisten NpS werden in chinesischen Chemie- und Pharmaziellaboren hergestellt und von dort in die Europäische Union bzw. weltweit verkauft. Diese importierten Stoffe werden dann zu den fertigen Konsumprodukten verarbeitet und im Internet, auch in den „darknet markets“, sowie in Shops (Head Shops) verkauft. Die zweite große Quelle für die Herstellung von NpS stellt Indien dar, jedoch vorrangig bei den „medizinischen“ Produkten. [1]

Die Konsumenten dieser „Legal Highs“ kommen aus allen Sparten der Gesellschaft: vom experimentierfreudigen Konsumenten daheim, über Insassen von Gefängnissen bis hin zu (Profi-)Sportlern. Diese Bandbreite an Konsumenten wird durch die Vielfalt an Substanzen der unterschiedlichen Stoffgruppen bedient. Seit 1997 werden jährlich neue Verbindungen auf den weltweiten Märkten detektiert und überwacht, zum einen durch das Europäische Überwachungscenter für Drogen und Drogensucht (EMCDDA), zum anderen seit 2009 durch das Büro der Vereinten Nationen für Drogen und Kriminalität (UNODC). Der EMCDDA wurden bis Anfang 2019 insgesamt 730 und dem UNODC 892 verschiedene NpS gemeldet. [2] Die Organisationen veröffentlichen jeweils einen jährlichen Bericht über die neuen Entwicklungen auf dem Drogenmarkt. Die aktuellen Tendenzen und Trends von 2005 bis 2018 sind in Abbildung 1 dargestellt [2]. Die Gruppen mit den häufigsten gemeldeten Neuzugängen an Verbindungen sind von 2010 bis 2016 die synthetischen Cannabinoide und die synthetischen Cathinone. Seit 2016 wird eine wachsende Anzahl an (Designer-)Opioiden verzeichnet. Das zeigt sich vor allem an den hoch potenten Opioid-Rezeptor-Agonisten (U-47700, U-48800, etc.) und den Fentanyl-Analoga. Besonders die Fentanyle sind mit ihrer vielfach höheren Wirkung (teilweise um das Tausendfache) gegenüber dem Morphin sehr risikobehaftet bzw. lebensgefährlich für den Konsumenten, aber auch für die Zollbeamten und andere Personen, die mit den pulverigen Stoffen in Kontakt kommen.





**Abb. 1: Übersicht der neu gemeldeten Substanzen an das Frühwarnsystem der EMCDDA von 2005 bis 2018 (entnommen aus dem Europäischen Drogenbericht 2019 [2])**

Laut Europäischem Drogenbericht wurden bei 85 % aller tödlichen Überdosierungen Opiode nachgewiesen [2]. Dass diese Gefährlichkeit auch gezielt zum Einsatz kommt, zeigte die Verwendung eines Aerosol-Gemisches von Carfentanil und Remifentanil von russischen Spezialeinheiten bei der Befreiung des von tschetschenischen Terroristen besetzten Dubrowka-Theaters in Moskau 2002 [3]. Auch die seit 2014 steigende Anzahl an Designer-BZD ist nicht zu vernachlässigen, denn diese sind meist um ein Vielfaches potenter als das altbekannte Diazepam [4-6].

Die im Folgenden präsentierte Arbeit konzentriert sich auf die Substanzgruppen der synthetischen Cannabinoide, der Cathinone und der (Designer-)BZD/Z-Drugs, da diese in

den Untersuchungsmaterialien der Rechtsmedizin Rostock seit 2016 im Zusammenhang mit letal verlaufenden Intoxikationen und polizeilichen Sicherstellungen vermehrt auftraten.

## 1.2 Synthetische Cannabinoide

Die Substanzklasse der synthetischen Cannabinoide/synthetischen Cannabinoid-Rezeptor-Agonisten (SCRA)/Cannabimimetika, im Internet auch als „Spice“ gehandelt, gehört zu den am meisten gehandelten Substanzen auf dem europäischen Drogenmarkt. Diese Gruppe umfasst mit Stand Anfang 2019 ca. 190 gemeldete Verbindungen in Europa [7]. Sie sollen die legale Alternative zu Cannabis (Haschisch/Marihuana) darstellen. Ein Eindruck von verschiedenen, sichergestellten Päckchen mit den Strukturformeln von potentiellen SCRA als Inhaltsstoffen ist in Abbildung 2 veranschaulicht.



**Abb. 2: Potpourri der sichergestellten Kräutermischungen mit den Strukturformeln von potentiellen Inhaltsstoffen**

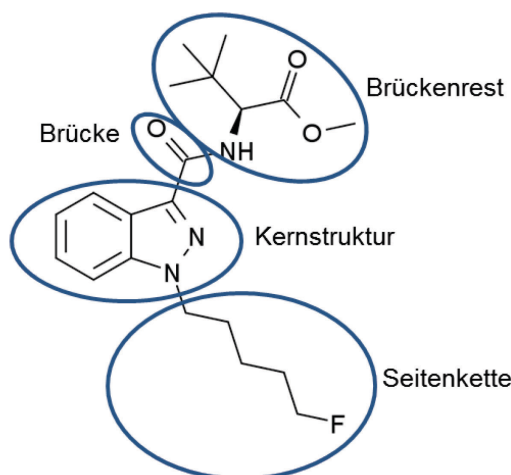
Tabelle 1 gibt einen Aufschluss über die am häufigsten sichergestellten SCRA im Jahr 2017 in der EU, Norwegen und der Türkei mit der jeweiligen Anzahl an Sicherstellungen und den Mengen [7].

Tab. 1: Übersicht über die sichergestellten SCRA in der EU, Norwegen und Türkei im Jahr 2017 [7]

SCRA	Anzahl der Sicherstellungen	Pulver [kg]	Kräuter [kg]
<b>5F-ADB</b>	2295	41,7	33
<b>MDMB-CHMICA</b>	1438	0,6	10
<b>AMB-FUBINACA</b>	1400	13,6	42
<b>AB-CHMINACA</b>	691	0,1	7
<b>ADB-FUBINACA</b>	542	0,4	3
<b>CUMYL-PEGACLONE</b>	303	5,0	7
<b>CUMYL-4CN-BINACA</b>	31	5,0	1
<b>JWH-018</b>	21	< 0,1	36

Die größte Anzahl der SCRA wurde bereits in den 1990er Jahren von J.W. Huffman (JWH-018, JWH-073) an der Clemson Universität synthetisiert, vorrangig zu medizinischen Zwecken. Für die schmerzlindernde Wirkung, die Linderung von Spastiken, die Beeinflussung motorischer Funktionen, die Appetitanregung sowie für die Antiemese ist Cannabis bzw. dessen relevanter Hauptbestandteil, das  $\Delta^9$ -trans-Tetrahydrocannabinol (THC), seit langem bekannt. [8;9] Diese therapeutischen Wirkungen wollte man mit der Entwicklung synthetischer Cannabimimetika ursprünglich verbessern. Jedoch wurden sie aufgrund ihrer unerwünschten Nebenwirkungen nicht im medizinischen Bereich angewandt. Cannabis ist seit langem die meist konsumierte Droge weltweit. In Europa haben rund 25 Millionen Menschen den Gebrauch von Cannabis im Jahr 2018 in einer Umfrage zugegeben [2]. Die Experimentierfreudigkeit jener Cannabis-Konsumenten hinsichtlich neuartiger Substanzen könnte ein Grund für die Popularität der SCRA und ihre stetige Weiterentwicklung sein. Zu den SCRA der älteren Generation gehören die JWH-Analoga, die AM-Analoga (u.a. AM-2201; von Alexandro Makriyannis, ein weiterer Cannabinoid-Forscher), die CP-Analoga (u.a. CP 47,497; von der Firma (Charles) Pfizer) und die HU-Analoga (u.a. HU-210; von der Hebräischen Universität von Jerusalem). Die SCRA der neueren Generation sind um ein Vielfaches potenter und damit risikoreicher, da gesundheitliche Schäden aufgrund fehlender Deklarationen von Inhaltsstoffen, Konzentrationsangaben und Wirkstärken auf den verkauften Kräutermischungen nicht vorausgesagt werden können. [10] So ist z.B. 5F-ADB um den Faktor 289 potenter als THC [11]. Zu den Nebenwirkungen zählen u.a. Panikattacken, psychotische Episoden, Tachykardie und Krampfanfälle sowie Übelkeit. Da die SCRA kein Cannabidiol enthalten, scheint das Risiko für Psychosen und Schizophrenie im Vergleich zum Phytocannabinoid

THC höher zu sein. Cannabidiol wird diesbezüglich ein schützender Effekt zugeschrieben. [12-15] Die langfristigen gesundheitlichen Beeinträchtigungen lassen sich bisher nicht abschätzen. Die Generationen der SCRA besitzen bestimmte Strukturmerkmale, die am Beispiel von 5F-ADB erklärt werden (Abb. 3):



**Abb. 3: Strukturelemente der SCRA am Beispiel von 5F-ADB**

5F-ADB besitzt eine Indazol-1,3-diyl-Kernstruktur, eine Carbonyl-Brücke in Position 3, einen *tert*-Leucinmethylester-Brückenrest und eine 5-Fluorpentyl-Seitenkette in Position 1. Mögliche, gängige Variationen der Strukturbestandteile können sein (nach Kikura-Hanajiri et al., 2014) [16]:

- Kernstruktur: Azaindole, Indole, Benzimidazole, Carbazole, Fluorphenyl-Pyrazole
- Brücke: Carboxamid, Carboxylat
- Brückenrest: Adamantyl, Cumyl, Tetramethyl-Cyclopropyl, Naphtyl, Phenyl, Quinoliny, *tert*-Leucinamid, Valinamid, Valinmethylester
- Seitenkette: 4-Cyanobutyl, Cyclohexylmethyl, Fluorbenzyl, Pentyl

Pharmakologisch wirksam werden die SCRA, wie das THC, durch Bindung an die Cannabinoid-Rezeptoren CB<sub>1</sub> und CB<sub>2</sub>. Der CB<sub>1</sub>-Rezeptor ist vorrangig im zentralen Nervensystem zu finden und ursächlich für die psychoaktive Wirkung. Des Weiteren spielt er eine Rolle bei Schmerz- und Unruheempfinden, sorgt für Hungergefühl/Appetit und auch Hypotonie. [17] Der CB<sub>2</sub>-Rezeptor ist vor allem im Immunsystem exprimiert, jedoch auch im Gehirn (Mikroglia) zu finden. Er scheint an Entzündungsreaktionen (Immunmodulator) beteiligt zu sein und stellt somit einen neuen Ansatz zur Behandlung von Entzündungskrankheiten dar [18]. Das Potential der SCRA an den CB<sub>1</sub>- und CB<sub>2</sub>-Rezeptoren ist sehr unterschiedlich, oft deutlich höher als das des THC, wie einige

pharmakologische Studien zeigten [11;19;20]. Die SCRA sind volle Agonisten am CB<sub>1</sub>-Rezeptor [21]. Somit ist ihre Wirkungsstärke für den Anwender sehr schlecht einzuschätzen, wenn er eine entsprechende Räuchermischung konsumiert.

Die Vermarktung dieser Substanzen geschieht hauptsächlich über den Internethandel und in den Head Shops sowie auf dem illegalen Schwarzmarkt. Die Produzenten sind häufig im chinesischen Raum angesiedelt. Auffällig ist, dass der Markt sehr schnell auf legislative Veränderungen reagiert. Zum Beispiel stellen Internetshops ihr Angebot kurzfristig entsprechend einer geänderten Gesetzeslage um. [2]

### Rechtliche Lage der SCRA

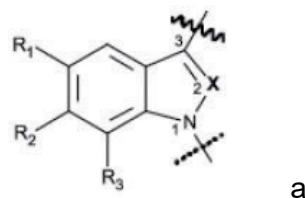
Bis November 2016 wurden in Deutschland als gefährlich eingestufte Einzelsubstanzen dem deutschen Betäubungsmittelgesetz (BtMG) unterstellt. Der Sachverständigenausschuss für Betäubungsmittel empfiehlt der Bundesregierung die Aufnahme derartiger Substanzen in das BtMG. So wurde 5F-ADB mit der 31. BtMÄndV vom 09.06.2016 in das BtMG aufgenommen. [22]

Da diese Prozedur für die Flut an neuen SCRA und weiteren neuen psychoaktiven Substanzen nicht mehr praktikabel war, wurde das Gesetz zur Bekämpfung der Verbreitung neuer psychoaktiver Stoffe (Neue-psychoaktive-Stoffe-Gesetz, NpSG) im Bundestag am 21. November 2016 beschlossen und am 26. November 2016 in Kraft gesetzt [23]. Mit dem NpSG wurden das erste Mal in Deutschland versucht ganze Gruppen an Substanzen zu verbieten – in diesem Fall die Cannabimimetika und die vom 2-Phenethylamin abgeleiteten Verbindungen, die die Cathinon-Grundstruktur einschließen.

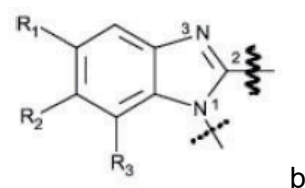
Damit zieht Deutschland in der Rechtslage dem Vereinten Königreich (NpS Act, Inkrafttreten: 26.05.2016) [24], der Schweiz (Verordnung des Eidgenössische Departement des Innern über die Verzeichnisse der Betäubungsmittel, psychotropen Stoffe, Vorläuferstoffe und Hilfschemikalien, Inkrafttreten: 01.06.2011) [25] und Österreich (Neue-Psychoaktive-Substanzen-Gesetz, NPSG, Inkrafttreten 01.01.2012) [26] nach.

Das Gesetz untersagt u.a. das Verabreichen, Handel treiben und Inverkehrbringen der Stoffe. Verbindungen mit folgenden Kernstrukturen (Abb. 4a-c) unterliegen diesem Gesetz [23]:

- 1) Indol-1,3-diyl ( $X = \text{CH}, \text{C-CH}_3$ ) und  
Indazol-1,3-diyl ( $X = \text{N}$ )  
(Bindungsort für die Brücke in Position 3,  
Bindungsort für die Seitenkette in Position 1)



- 2) Benzimidazol-1,2-diyl-Isomer I  
(Bindungsort für die Brücke in Position 2,  
Bindungsort für die Seitenkette in Position 1)



- 3) Benzimidazol-1,2-diyl-Isomer II  
(Bindungsort für die Brücke in Position 1,  
Bindungsort für die Seitenkette in Position 2)

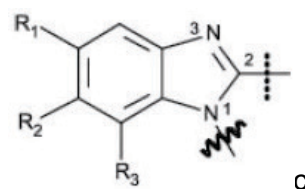


Abb. 4a-c: Kernstrukturen von SCRA-Typen [23]

Die „nicht-geringe Menge“ eines Betäubungsmittels stellt ein Tatbestandsmerkmal der §§ 29a, 30 und 30a BtMG dar [27]. Bei Überschreiten der „nicht-geringe Menge“ wird nicht mehr von einem Eigenbedarf des Konsumenten ausgegangen, sondern ein erwerbsmäßiger Handel angenommen. Im Jahr 2017 setzte sich eine Kommission mit Vertretern aus dem Bundeskriminalamt, den Landeskriminalämtern Baden Württemberg, Bayern, Berlin, Nordrhein-Westfalen, Rheinland-Pfalz und der Generalzolldirektion zusammen, um Grenzwerte der „nicht-geringen Menge“ für die SCRA zu bestimmen [28]. Eines der Hauptkriterien war die Potenz (anhand der Affinität zum Rezeptor  $K_i$  und der mittleren effektiven Wirkkonzentration  $EC_{50}$ ) des jeweiligen Stoffes und die damit verbundenen möglichen Gesundheitsrisiken. In Tabelle 2 ist ein Ausschnitt der Grenzwerte der „nicht-geringen Mengen“ für die in dieser Arbeit untersuchten SCRA aufgelistet. Für die meisten Substanzen wurde eine „nicht-geringe Menge“ von einem Gramm vorgeschlagen. [28].

Tab. 2: Übersicht über die Potenzen und die vorgeschlagenen Grenzwerte der "nicht-geringen Menge" der in dieser Arbeit relevanten SCRA [28]

Name	$K_i$ (CB <sub>1</sub> ) [nM]	$EC_{50}$ (CB <sub>1</sub> ) [nM]	vorgeschlagener Grenzwert der "nicht-geringen Menge"
5F-ABICA	-	2,4	2 g

Name	K <sub>i</sub> (CB <sub>1</sub> ) [nM]	EC <sub>50</sub> (CB <sub>1</sub> ) [nM]	vorgeschlagener Grenzwert der "nicht-geringen Menge"
5F-AB-PINACA	-	0,48	1 g
5F-ADB	-	0,59	1 g
AB-CHMINACA	0,51 0,78 0,519	7,4 0,27 0,278	1 g
AB-FUBINACA	0,9	1,8 0,89	1 g
AB-PINACA	2,87	1,2 71	1 g
ADB-CHMINACA	0,289	-	1 g
ADB-FUBINACA	-	1,2	1 g
AMB-FUBINACA	-	2,0	1 g

### 1.3 Synthetische Cathinone

Die zweite große Gruppe der NpS stellen die Cathinone (Verkauf und Vertrieb als „Badesalze“, „Research Chemicals“, „Dünger“) dar und umfassen mit Stand Anfang 2019 138 gemeldete Verbindungen in Europa [7]. Chemisch gesehen gehören sie zu den  $\beta$ -keto-Phenylethylaminen und sind strukturell dem Amphetamin, Methamphetamin, Methylendioxyamphetamin (MDMA) und dem Pyrovaleron sehr ähnlich. Die Ursprungssubstanz ist das Cathinon, das Alkaloid der Khatpflanze (*catha edulis*), welches auch synthetisch hergestellt werden kann (Abb. 5).

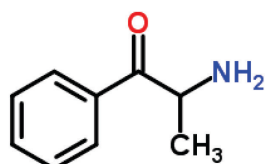


Abb. 5: Struktur des Cathinon (2-Amino-1-phenyl-1-propanon) links und *Catha Edulis* rechts [29]

Die erste gemeldete Substanz der Cathinone an das EMCDDA war das Methylon im Jahr 2005. Seitdem treten jährlich eine Vielzahl neuer Derivate auf, denn auch sie unterliegen, wie die SCRA, einem stetigen Wandel in der Synthese. Tabelle 3 gibt einen Aufschluss der

am häufigsten sichergestellten Cathinone im Jahr 2017 in der EU, Norwegen und der Türkei mit der jeweiligen Anzahl an Sicherstellungen und Mengen [7].

**Tab. 3: Übersicht über die sichergestellten Cathinone in der EU, Norwegen und Türkei im Jahr 2017 [7]**

Cathinon	Anzahl der Sicherstellungen	Pulver [kg]	Tabletten
N-Ethylhexedron	2653	224	13
4-CMC/Clephedron	1769	443	4
4-CEC	1638	137	92
3-CMC	1085	29	0
3-CEC	926	1	3
Ephylon	445	39	38991
Dibutylone/bk-MMBDB	262	7	6723

Die Grundstruktur des 2-Amino-1-phenyl-1-propanons kann an folgenden Positionen substituiert werden [30]:

- 1) am Phenylring durch ein beliebig substituiertes aromatisches Ringsystem,
- 2) ein oder mehrere H-Atome am endständigen C-Atom und
- 3) ein oder beide H-Atome des N-Atoms, wobei N auch Bestandteil eines Ringsystems sein kann.

Cathinone wirken mehr oder weniger stark psychostimulierend wie die traditionellen Psychostimulanzien Amphetamin, Methamphetamin, Ecstasy (MDMA) und Cocain. Des Weiteren haben sie anorektische, entaktogene und euphorisierende Wirkungen. Vom Konsumenten werden sie als Zubereitungen, aber auch als Reinstoffe, sog. „Research Chemicals“ erworben (Abb. 6). Sie sind, ebenso wie die SCRA, meist über den Internethandel zu beziehen. [31]



**Abb. 6: Beispiele für gehandelte „Research Chemicals“**



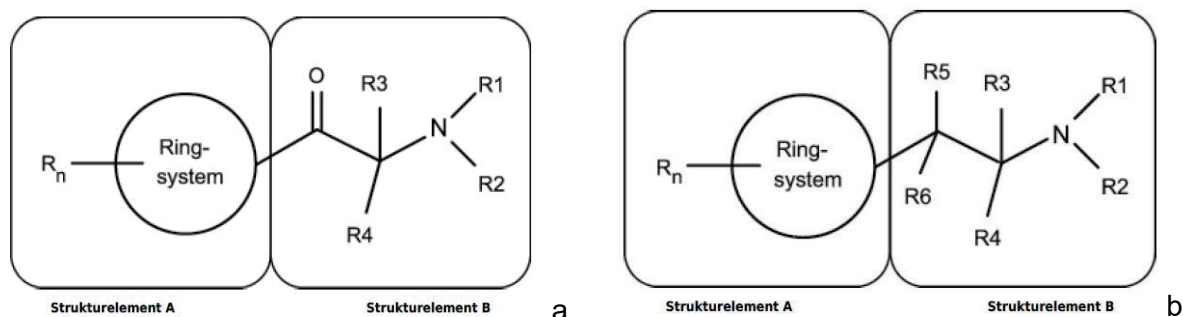
Die Aufnahme der Cathinone erfolgt vorwiegend oral (Pulver oder Tabletten), nasal oder sublingual, seltener inhalativ oder intravenös [32].

Ihr Wirkungsmechanismus findet im Wesentlichen über die Inhibierung der Monoamintransporter und über die induzierte Monoaminausschüttung statt [31]. Die jeweiligen Affinitäten zu den dopaminergen, noradrenergen und serotonergen Rezeptoren (bzw. zu ihren Subtypen) und deren Vorkommen und Verteilung im Zentralnervensystem entscheiden über die unterschiedlichen Rauschwirkungen der einzelnen Cathinone. Zum Beispiel agieren Butylon, Ethylon, Mephedron, Methylon und Naphyryon, ähnlich dem Cocain, als nicht selektive Monoamin-Wiederaufnahme-Inhibitoren. Bis auf Naphyryon induzieren sie die Ausschüttung von Serotonin, wie MDMA und andere Entaktogene auch. Cathinon, Methcathinon und Flephedron fungieren als Dopamin- und Noradrenalin-Wiederaufnahme-Hemmer und induzieren die Ausschüttung von Dopamin, vergleichbar mit Amphetamin und Methamphetamin. MDPV ist ein sehr potenter Inhibitor des Dopamin- und Noradrenalin-Transporters. Alle Cathinone weisen eine sehr gute Durchgängigkeit durch die Blut-Hirn-Schranke auf. [33]

Aufgrund dieser Wirkungsweisen kann es zu zahlreichen adversen Effekten wie Hypertension, Tachykardie, Hyperthermie, Serotonin-Syndrom, akutem Nierenversagen, Agitiertheit/Aggressionen und mittleren bis starken Psychosen kommen [34].

## Rechtliche Lage der Cathinone

Mit dem Inkrafttreten des NpSG wurde auch die Gruppe der Cathinone, basierend auf der Cathinon-Grundstruktur (a) und allgemein alle Verbindungen, die vom 2-Phenethylamin (b) abgeleitet sind sowie eine maximale Molekülmasse von 500 g/mol haben, gesamtheitlich rechtlich geregelt. Einzelsubstanzen können ebenso dem BtMG unterstellt sein (z.B. Methylon in der Anlage II des BtMG, seit 2012) [35].



**Abb. 7: Grundstrukturen des Cathinons (a) und des 2-Phenethylamins (b), welche im NpSG von 2016 verankert sind [23]**

Das Strukturelement A schließt folgende Ringsysteme bzw. Strukturen ein: Phenyl-, Naphthyl-, Tetralinyl-, Methylendioxyphenyl-, Ethylendioxyphenyl-, Furyl-, Pyrrolyl-, Thienyl-,

Pyridyl-, Benzofuranyl-, Dihydrobenzofuranyl-, Indanyl-, Indenyl-, Tetrahydrobenzodifuranyl-, Benzodifuranyl-, Tetrahydrobenzodipyranyl-, Cyclopentyl- und Cyclohexyl-Ringssysteme. Das Strukturelement B und substituierte Atome bzw. Atomgruppen (u.a. H, F, Cl, Alkyl- bis C<sub>6</sub>, Alkoxy- bis C<sub>6</sub>, Nitrogruppen) können sich an jeder Position des Strukturelementes A befinden. [23]

Im Jahr 2018 wurden durch eine Expertenkommission der obengenannten Beteiligten (Vgl. 1.2) die Grenzwerte für die „nicht-geringe Mengen“ von Cathinonen vorgeschlagen. In Tabelle 4 sind die in dieser Arbeit untersuchten Cathinone die Grenzwerte für die „nicht-geringen Mengen“ aufgelistet [30].

**Tab. 4: Übersicht über die vorgeschlagenen Grenzwerte der "nicht-geringen Mengen" der in dieser Arbeit relevanten Cathinone [30]**

Name	vorgeschlagener Grenzwert der "nicht-geringen Menge"	Name	vorgeschlagener Grenzwert der "nicht-geringen Menge"
Butylon	15 g	Methcathinon	15 g
Cathinon	20 g	Methedron	25 g
Ethylon	30 g	Methylon	30 g
Flephedron	25 g	Naphyron	5 g
MDPPP	10 g	Pentedron	15 g
MDPV	5 g	Pentylon	15 g
Mephedron	25 g	α-PVP	5 g

Damit liegen die vorgeschlagenen Grenzwerte im ähnlichen Bereich wie für Amphetamin (Racemat: 10 g), Methamphetamin (Racemat: 10 g, (2S)-Methamphetamin: 5 g) und MDMA (30 g). Cathinone differieren in ihrer Potenz in Abhängigkeit ihrer Molekülbausteine. Eine Substitution am Phenylring (Methoxygruppen, Halogenatome) führen zu einer gesteigerten Potenz gegenüber entsprechend unsubstituierter Phenethylamine. Insgesamt ist die Wirkungsstärke der Cathinonderivate geringer als die ihrer jeweiligen Phenethylamin-Strukturanaloga. Ursächlich dafür könnte die erhöhte Polarität der Cathinone sein, wodurch die Überwindung der Blut-Hirn-Schranke erschwert wird. [30]

## 1.4 Benzodiazepine/Z-Substanzen

Als weitere aufsteigende Substanzgruppe unter den NpS sind die Benzodiazepine/Z-Substanzen (BZD/Z-Drugs), v.a. die Designer-Benzodiazepine, zu nennen. Zum Stand

Anfang 2019 wurden 28 Substanzen neu gemeldet an die EMCDDA. Über die am häufigsten sichergestellten BZD/Z-Drugs 2017 und deren Mengen gibt die Tabelle 5 Aufschluss [7].

Tab. 5: Übersicht über die sichergestellten BZD/Z-Drugs in der EU, Norwegen und der Türkei im Jahr 2017 [7]

Benzodiazepin	Anzahl der Sicherstellungen	Pulver [kg]	Tabletten
Etizolam	1634	25,06	2218797
Clonazolam/Clonitrazolam	741	0,03	48037
Norfludiazepam	365	0,25	28234
Diclazepam	274	1,09	17960
Phenazepam	102	0,05	13757

Die größten Mengen werden in China als Pulver produziert und nach Europa zur Weiterverarbeitung (u.a. Pressen von Tabletten) transportiert. Der Verkauf findet dann als Ersatzprodukt bekannter und zugelassener BZD/Z-Drugs, wie z.B. Diazepam oder Alprazolam, statt. Sie werden jedoch auch als fertige „fake medicine“ aus Indien unter den Namen der bekannten Vertreter dieser Substanzgruppe importiert und auf den Schwarzmärkten verkauft [7]. In Schottland wurde von 2016 bis 2017 ein illegaler Handel mit Diazepam-Tabletten aufgedeckt. Diese sahen aus wie 10 mg Tabletten Valium, enthielten jedoch in 65 % der gefundenen Tabletten Etizolam, mit einem ungefähren Wirkstoffgehalt von 0,8 mg. [7]

Klassische BZD (mit Ausnahme von Chlordiazepoxid) besitzen eine Lactamstruktur, sind meist 1,4-BZD und sehr lipophil. Dadurch überwinden sie leicht die Blut-Hirn-Schranke und werden zudem oral sehr gut resorbiert. Die kurzwirksamen BZD weisen oftmals einen Imidazol- oder Triazolring mit einer Methylgruppe am C<sub>1</sub>-Atom auf. In Abbildung 8 sind die Strukturformeln für die 1,4-BZD mit Diazepam, 1,5-BZD mit Clobazam und Alprazolam für die kurzwirksamen BZD gegenübergestellt. [36]

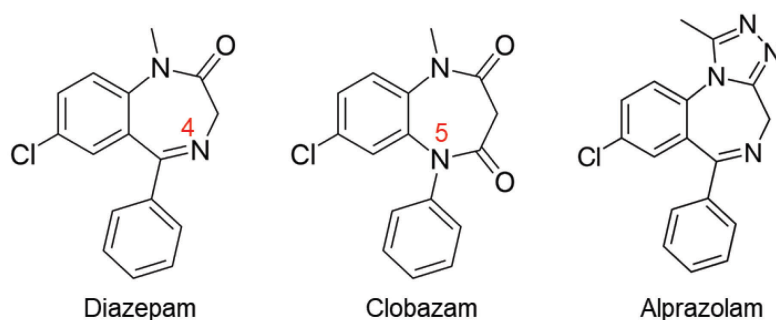
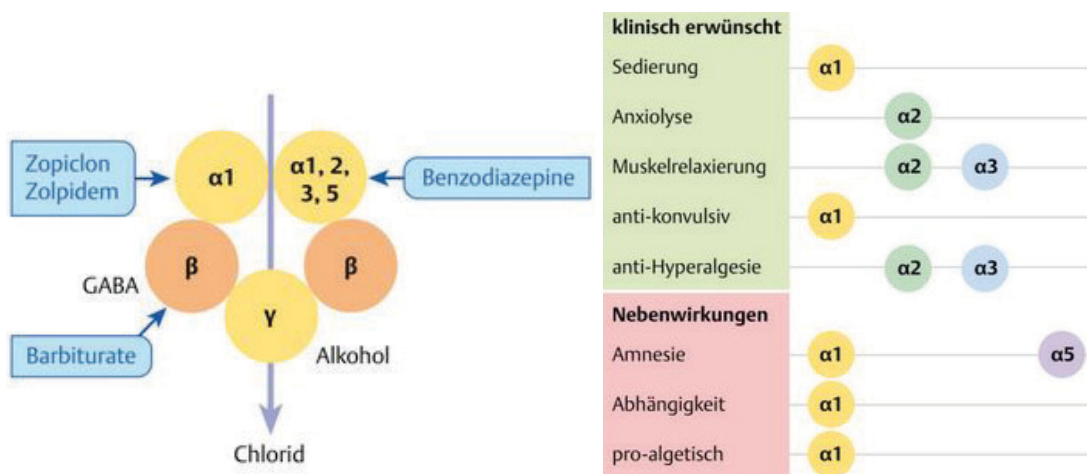


Abb. 8: Strukturformeln von Diazepam (1,4-BZD), Clobazam (1,5-BZD) und Alprazolam (Triazolring mit Methylgruppe am C<sub>1</sub>) [36]

BZD gehören zu den meistverschriebenen Medikamenten bei Unruhe, Angst- und Spannungszuständen, psychosomatischen Störungen sowie bei funktionellen Schlafstörungen. Diese tranquillanten Eigenschaften werden auch zur Behandlung von Depressionen, Muskelspasmen und -verspannungen, Epilepsie oder zur Narkose genutzt. Zopiclon, Zolpidem und Zaleplon (Z-Drugs) werden vorrangig als Hypnotika eingesetzt, da sie schwächere muskelrelaxierende und antikonvulsive Wirkungen als die BZD besitzen. BZD wie Flubromazolam und Etizolam haben meist eine deutlich höhere Potenz als die klassischen BZD und können daher bereits in geringen Dosen eine starke Sedierung hervorrufen und sogar zu Atemdepressionen führen. Dennoch werden sie als Selbstmedikation bei Angststörungen verwendet sowie um die unerwünschten Wirkungen anderer halluzinogener Drogen oder Stimulantien zu unterdrücken bzw. abzumildern. [36;37] BZD und Z-Drugs wirken als allosterische Agonisten an den  $\alpha$ -Untereinheiten des GABA<sub>A</sub>-Rezeptors, d.h. sie beeinflussen die Wirkung der endogenen GABA ( $\gamma$ -Aminobuttersäure). Der GABA<sub>A</sub>-Rezeptor ist ein Ionenkanal. Durch seine Aktivierung wird der Chlorid-Einstrom verstärkt und es kommt zur Hyperpolarisation (Abb. 9). Damit wird die neuronale Erregbarkeit je nach Ausmaß des Chlorid-Einstroms reduziert. [36]



**Abb. 9: Wirkungsmechanismus der BZD/Z-Drugs am GABA<sub>A</sub>-Rezeptor und Wirkungen der GABA<sub>A</sub>-Untereinheiten [36]**

BZD binden an den  $\alpha$ -Untereinheiten 1, 2, 3 und 5, wohingegen die Z-Substanzen spezifisch an die  $\alpha_1$ -Untereinheit binden. Mehrere Liganden führen zu einer Wirkungsverstärkung, sodass von der gleichzeitigen Einnahme von BZD/Z-Drugs und Alkohol laut Fachinformation der Hersteller abgeraten wird [38]. Intoxikationen mit BZD/Z-Drugs äußern sich in Symptomen wie Ataxie, Somnolenz, Benommenheit, Hyporeflexie, Hypotonie und Atemdepression. Als Antidot wird Flumazenil (kompetitiver BZD-Antagonist) intravenös verabreicht. [36;37]

### Rechtliche Lage der BZD/Z-Drugs

Die Substanzen der BZD-Gruppe und Z-Drugs sind dem BtMG unter der Anlage II und III, verkehrsfähige bzw. verkehrs- und verschreibungsfähige BtM, unterstellt. So wurden auch neue Designer-BZD in das BtMG aufgenommen (30. BtMÄndVO, Diclazepam und Flubromazepam, Inkrafttreten 21.11.2015) [39], jedoch nicht in das NpSG vom 26.11.2016. Mit Überarbeitung des NpSG im Juli 2019 wurden weitere Substanzklassen (NpS) wie die BZD aufgenommen (geändert durch Art. 1 V v. 12.7.2019 I 1083) [40].

### 1.5 Massenspektrometrie

Die Massenspektrometrie ist ein weit verbreitetes Verfahren der instrumentellen Analytik, v.a. im Bereich der forensischen Analytik. Es dient zur Identifizierung, gegebenenfalls auch zur Strukturaufklärung sowie zur Quali- und Quantifizierung von Substanzen und kann u.a. gekoppelt sein mit Gaschromatographie (GC-MS) und Flüssigkeitschromatographie (LC-MS). Bei der Massenspektrometrie werden aus Molekülen Ionen erzeugt und diese im Anschluss nach ihrem Masse-Ladungsverhältnis aufgetrennt ( $m/z$ ). Bei der Ionisation unterscheidet man zwischen den harten Ionisierungsmethoden, wie z.B. der Elektronenstoßionisation, und den weichen/sanften Ionisierungsmethoden, beispielsweise der Elektrospray-Ionisation (ESI). [41] Erstere Methode wird vorrangig zur Strukturaufklärung verwendet und fand daher in dieser Arbeit Anwendung bei der Identifizierung der sichergestellten Stoffproben mittels GC-MS. Bei der ebenfalls hier angewandten LC-ESI-MS/MS-Methode werden hauptsächlich Molekülonen oder Quasi-Molekülonen (z.B.  $[M+H]^+$ ) gebildet. In einem elektrostatisch geladenen Sprühnebel werden kleinste, geladene Tröpfchen, die aus der Analytlösung bei Atmosphärendruck in die Ionisationsquelle gesprüht wurden, desolvatisiert und zur Coloumb-Explosion gebracht. [42] Diese desolvatisierten Molekülonen werden über eine Transferkapillare und den Skimmer, einer kegelförmigen Elektrode, in den nachfolgenden Hochvakuumbereich und den Massenanalysator transportiert. Der Massenanalysator (Quadropol) filtert durch ein variierendes elektrisches Feld die Ionen mit einem bestimmten  $m/z$ -Verhältnis heraus, die im Anschluss detektiert werden können. Bei der Kopplung mehrerer massenspektrometrischer Analysen (Tandem-MS) werden sensitivere (Femtogramm-Bereich) und spezifischere Ergebnisse generiert. Der erste Quadropol (Q1) filtert bestimmte Massen (Precursor-Ionen) heraus, die in der folgenden Kollisionszelle (zweiter Quadropol/Oktapol, Q2) fragmentiert werden. Im dritten Quadropol (Q3) werden die fragmentierten Ionen (Produkt-Ionen) nach ihrer  $m/z$  selektiert und im Anschluss detektiert. Dieses massenspektrometrische Verfahren (Triple-Quadropol) wird häufig für den quantitativen Nachweis genutzt und fand in dieser Arbeit Anwendung in

der Methodenentwicklung für die Substanzen der SCRA, Cathinone und BZD/Z-Drugs und der Analyse der biologischen Matrices. [42] Dazu wurden die verschiedenen Messmodi des Triple-Quadropol genutzt. Im Q1-Scan gelangen alle Analyten eines vorher definierten Massenbereiches  $m/z$  durch Umgehung der Säule zum Detektor, um die Precursor-Ionen der Einzelsubstanzen zu bestimmen. Im Produkt-Ionen-Scan werden die Precursor-Ionen im Q1 gefiltert und dann in der Kollisionszelle fragmentiert. Alle entstandenen Produkt-Ionen gelangen zum Detektor und so können im Anschluss die intensivsten und ungestörtesten Massenübergänge (Precursor-Ion zu Produkt-Ion) für die jeweilige Substanz ausgewählt werden. [41] Diese werden dann für den Multiple-Reaction-Monitoring-Modus (MRM) genutzt, um eine hohe Messempfindlichkeit für die jeweiligen Analyten zu erreichen, da hier der Q1 als auch der Q3 als Massenfilter fungieren, d.h., es werden nur die vorgegebenen Massenübergänge gemessen. Der intensivste Massenübergang wird in der Regel zum Quantifizieren genutzt und der zweite bzw. auch der dritte Massenübergang dienen zum Qualifizieren der Analyten.

Aufgrund der sehr geringen Konzentrationen an SCRA, Cathinonen und Designer-BZD in biologischen Matrices (v.a. Blut/Serum), der Lipophilie und der molekularen Größenordnung wurde zur Bearbeitung des Dissertationsvorhabens die LC-ESI-MS/MS als analytische Messmethode gewählt.

### 1.6 Falldarstellungen der letal verlaufenen Intoxikationen

Im zeitlichen Zusammenhang mit der Sicherstellung von Stoffproben im Einzugsgebiet des Institutes für Rechtsmedizin Rostock (2016) sind innerhalb von drei Monaten drei Personen, offensichtlich nach dem Konsum von Kräutermischungen, gestorben. Ein weiterer Todesfall ereignete sich 2018.

Im ersten Fall ist ein 29-jähriger Insasse einer Justizvollzugsanstalt in seiner Zelle tot aufgefunden worden. Lebend wurde er zuletzt am Vorabend beim Einschluss gesehen. Es waren weder Krankheiten noch ein Missbrauch von nicht legalen Substanzen bekannt. In seiner Zelle wurden unter anderem eine selbstgebastelte Bong mit einer braunen Flüssigkeit sowie in Papiertüten versteckte Tee-ähnliche Substanz gefunden. Die Obduktionsergebnisse zeigten ein ausgeprägtes Lungenödem und –emphysem sowie eine Cyanose der inneren Organe. [43-45]

Im zweiten Fall verstarb ein 35-jähriger Mann in seinem Zimmer im Elternhaus. Ein langjähriger Drogenabusus war bei ihm bekannt. Am Vortag vor seinem Tod erhielt er eine Gratisprobe bei einer drogenassoziierten Bestellung per Internet, die er noch am selben

Abend konsumierte. In seinem Zimmer wurden zusätzlich zu dieser Probe noch zwei Mikroanalysenwaagen mit weißen Anhaftungen sowie eine Pille der Bestellung mit der Aufschrift „Downer“ sichergestellt. Die Obduktion ergab auch bei ihm ein Lungenödem und – emphysem sowie moderate Hirndruckzeichen. [44-46]

Im dritten Fall wurde ein 37 Jahre alt gewordener Inhaftierter einer Justizvollzugsanstalt am Morgen leblos in seiner Zelle aufgefunden. Auch er ist letztmalig bei Einschluss am Vorabend lebend gesehen worden. In seiner Zelle wurden eine selbstgebastelte Bong, Rauchutensilien und ein Abschiedsbrief sichergestellt. Neben seinem Körper sind Rasierklingen gefunden worden, die zu seinen Verletzungen am Unterarm passen konnten. Bei diesem Insassen war eine Medikation mit Alprazolam, Flupirtin und Tramadol bekannt. Anlässlich der Obduktion zeigten sich ein Lungenödem, eine Cyanose der Schleimhäute, eine Blutstauung der inneren Organe sowie oberflächliche Verletzungen des linken Unterarms. [44;45;47]

Im vierten Fall betraf es einen 44-jährigen Mann mit bekannter Alkohol- und Drogenabhängigkeit. Er wurde tot in seiner Wohnung aufgefunden und hatte vor seinem Ableben offenbar noch Kräutermischungen konsumiert. Bei der Obduktion stellte sich ebenfalls ein akutes Lungenödem heraus. [45;48]

## 2. Fragestellungen

Im Rahmen dieser Dissertation sollten analytische Methoden zur flüssigchromatographischen-massenspektrometrischen Detektion (LC-ESI-MS/MS) von neuen psychoaktiven Stoffen etabliert und für den routinemäßigen Einsatz validiert werden. Zu diesen Stoffen zählen unter anderem die SCRA, die Cathinone und Vertreter der BZD (Vergleich NpSG). Insbesondere für die beiden erstgenannten Substanzgruppen sind die in den biologischen Matrices (z.B. Blut/Serum) nachweisbaren Konzentrationen derart niedrig, dass hochempfindliche Analysetechniken wie die LC-MS/MS erforderlich sind, quantitative Bestimmungen vornehmen zu können.

Primär verfügbar sind NpS über das Internet. In den dort erhältlichen Abpackungen können, bei optisch gleichem Aussehen, Substanzen unterschiedlicher Konzentration bzw. sogar unterschiedliche Substanzen selbst enthalten sein. Dies birgt eine große gesundheitliche Gefahr für den Konsumenten. Daher werden derartige Substanzproben hinsichtlich ihrer Inhaltsstoffe und deren Wirkstoffkonzentrationen zur Einschätzung des Gefährdungspotentials untersucht.

Im Einzelnen sollte dieses Dissertationsvorhaben folgende Aspekte beinhalten:

1. Aufbau von LC-MS/MS-Methoden zum quantitativen Nachweis von SCRA, Cathinonen und BZD/Z-Drugs
2. Validierung dieser LC-MS/MS-Methoden entsprechend den internationalen Richtlinien
3. Anwendung der LC-MS/MS-Methoden an humanen Probenmaterial (Blut/Serum, Urin, Organablaufflüssigkeiten bzw. Gewebekomogenaten)
4. Untersuchungen von Spurenmaterialien (Kräutermaterial, Pulverproben/"Research Chemicals") hinsichtlich der enthaltenen Substanzen und deren Gehalte mittels gängiger Analysetechniken (GC-MS, LC-MS/MS, HPLC-DAD, NMR)



### 3. Material und Methoden

#### 3.1 Chemikalien

In Tabelle 6 sind die verwendeten Chemikalien und Lösungsmittel mit deren Hersteller für die praktischen Arbeiten aufgelistet.

Tab. 6: Für die Versuchsdurchführungen verwendete Chemikalien und Lösungsmittel

Substanz	Hersteller	
1-Chlorbutan (BuCl)	Arcos Organics	New Jersey, USA
Acetanhydrid (Essigsäureanhydrid)	Merck KGaA	Darmstadt, Deutschland
Acetonitril (ACN, für LC-MS)	Merck KGaA	Darmstadt, Deutschland
Ameisensäure (HCOOH, für LC-MS)	Merck KGaA	Darmstadt, Deutschland
Ammoniumformiat ( $\text{NH}_4^+\text{HCOO}^-$ , für HPLC)	Fluka Analytical	St. Louis, USA
Dinatriumhydrogenphosphat ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ )	Merck KGaA	Darmstadt, Deutschland
Essigsäure (AA) J.T.Baker	Avantor Performance Materials Poland S.A.	Gliwice, Polen
Ethylacetat (EA, für HPLC)	Merck KGaA	Darmstadt, Deutschland
Kaliumhydrogenphosphat	Merck KGaA	Darmstadt, Deutschland
Methanol (MeOH, für LC-MS)	Merck KGaA	Darmstadt, Deutschland
Natronlauge 1 M (NaOH)	Zentralapotheke des Klinikums Universität Rostock	Rostock, Deutschland
Phosphorsäure	VEB JENAPHARM Laborchemie	Apolda, Deutschland
Pyridin	Merck KGaA	Darmstadt, Deutschland
Salzsäure 1 M (HCl)	Zentralapotheke des Klinikums Universität Rostock	Rostock, Deutschland
Wasser ( $\text{H}_2\text{O}$ , für Chromatographie)	Merck KGaA	Darmstadt, Deutschland

#### 3.2 Referenzsubstanzen

Die Standardsubstanzen und deuterierten Substanzen (ISTD) für die zu etablierenden Methoden zum quantitativen Nachweis von SCRA, Cathinonen und BZD/Z-Drugs wurden von verschiedenen Herstellern bezogen. In Tabelle 7 sind die Substanzen für die SCRA-Methode und deren Bezugsquellen aufgelistet.

Tab. 7: Standardsubstanzen aus der Gruppe der synthetischen Cannabinoide und deren Bezugsquellen

Analyt	Bezugsquelle	
5F-AB-PINACA	isoliert aus Räuchermischung*	
5F-ADB	Cayman Chemical	Ann Arbor, USA
5F-CUMYL-P7AICA	Cayman Chemical	Ann Arbor, USA
5F-CUMYL-PICA	Cayman Chemical	Ann Arbor, USA
5F-MDMB-PICA	isoliert aus Räuchermischung*	
AB-FUBINACA	Institut für Rechtsmedizin des Universitätsklinikums der Albert-Ludwigs-Universität Freiburg	Freiburg, Deutschland
AB-PINACA	Institut für Rechtsmedizin des Universitätsklinikums der Albert-Ludwigs-Universität Freiburg	Freiburg, Deutschland
ADB-CHMINACA	Cayman Chemical	Ann Arbor, USA
ADB-FUBINACA	isoliert aus Räuchermischung*	
ADB-PINACA	Institut für Rechtsmedizin des Universitätsklinikums der Albert-Ludwigs-Universität Freiburg	Freiburg, Deutschland
EG-018	isoliert aus Räuchermischung*	
MDMB-CHMCZKA	Cayman Chemical	Ann Arbor, USA
MDMB-FUBICA	Cayman Chemical	Ann Arbor, USA
MMB-CHMICA	Cayman Chemical	Ann Arbor, USA
PX-2	isoliert aus Räuchermischung*	
ADBICA-d <sub>9</sub>	Cayman Chemical	Ann Arbor, USA

\*Die Räuchermischungen stammen aus behördlichen Sicherstellungen (vorrangig von der Polizei Mecklenburg-Vorpommern). Die Identität und Reinheit wurden mittels GC-MS und NMR bestätigt.

Insgesamt wurden 27 Cathinone (2-DPMP, 4-Flourophedrin, 4-Methylephedrin-d<sub>3</sub>, Bupropion, Bupropion-d<sub>9</sub>, Butylon, Butylon-d<sub>3</sub>, Diethylpropion-d<sub>10</sub>, Ethylon, Ethylon-d<sub>5</sub>, Eutylon, Eutylon-d<sub>5</sub>, Hydroxybupropion, Hydroxybupropion-d<sub>6</sub>, MDPBP, MDPBP-d<sub>8</sub>, MDPPP, MDPPP-d<sub>8</sub>, MDPV, MDPV-d<sub>8</sub>, Methedron, Methcathinon-d<sub>3</sub>, Naphyron, Naphyron-d<sub>5</sub>, Pentedron, Pentylon, Pentylon-d<sub>3</sub>) und 43 BZD/Z-Drugs (3-Hydroxyphenazepam, 3-Hydroxyphenazepam-d<sub>4</sub>, 7-Aminoflunitrazepam, 7-Aminoflunitrazepam-d<sub>7</sub>, Alprazolam, Alprazolam-d<sub>5</sub>, Bromazepam, Bromazepam-d<sub>7</sub>, Clobazam, Clobazam-<sup>13</sup>C<sub>6</sub>, Clonazepam, Clonazepam-d<sub>4</sub>, Diazepam, Diazepam-d<sub>5</sub>, Etizolam, Etizolam-d<sub>3</sub>, Flunitrazepam, Flunitrazepam-d<sub>7</sub>, Lorazepam, Lorazepam-d<sub>4</sub>, Lormetazepam, Midazolam, Midazolam-d<sub>4</sub>, N-Desmethyflunitrazepam, N-Desmethyflunitrazepam-d<sub>4</sub>, N-Desmethylopiclon, N-Desmethylopiclon-d<sub>4</sub>, Nitrazepam, Nitrazepam-d<sub>5</sub>, Norclobazam-<sup>13</sup>C<sub>6</sub>, Nordazepam,

Nordazepam-d<sub>5</sub>, Oxazepam, Oxazepam-d<sub>5</sub>, Temazepam, Temazepam-d<sub>5</sub>, Zopiclon, Zopiclon-d<sub>4</sub>, Zolpidem-d<sub>7</sub>,  $\alpha$ -Hydroxyalprazolam,  $\alpha$ -Hydroxyalprazolam-d<sub>5</sub>,  $\alpha$ -Hydroxymidazolam,  $\alpha$ -Hydroxymidazolam-d<sub>4</sub>) von der Firma Cerilliant® (Round Rock, USA) bezogen.

Sieben weitere Cathinone (Cathinon, Flephedron, Mephedron (4-MMC), 4-MMC-d<sub>3</sub>, Methcathinon, Methylon, Methylon-d<sub>3</sub>) und drei BZD/Z-Drugs (3-Hydroxyflunitrazepam, Norclobazam, Zolpidem) sind von der Firma Lipomed AG (Arlesheim, Schweiz) erworben worden. Von der Firma Chiron AS (Trondheim, Norwegen) wurden 13 BZD (Adinazolam, Clonazolam, Cloniprazepam, Desalkylflurazepam, Flubromazolam, Flunitrazepam, Ketazolam, Meclonazepam, Metizolam, Nifoxipam, Nimetazepam, Nitrazolam, Pivoxazepam) und von der Firma LGC drei BZD (Delorazepam, Delorazepam-d<sub>4</sub> und Pyrazolam) käuflich erhalten.

4-CEC, HEX-EN, Mexedron, N-Ethylpentylon, PV-9 und TH-PVP wurden aus Pulverproben von behördlichen Sicherstellungen (vorrangig von der Polizei Mecklenburg-Vorpommern) extrahiert. Die Identitäten und Reinheiten der Substanzextrakte wurden mittels GC-MS und NMR überprüft.

Detaillierte Auflistungen der einzelnen Referenzsubstanzen sind im Anhang unter 8.1 zu finden.

### 3.3 Proben aus behördlichen Sicherstellungen

Im Rahmen von polizeilichen Ermittlungen in Mecklenburg-Vorpommern wurden insgesamt 482 verschiedene Päckchen mit Räuchermischungen und pulverhaltigen Proben sichergestellt und diese zur Untersuchung an das Institut für Rechtsmedizin Rostock gesandt.

### 3.4 Humanes Probenmaterial

Humanes Serum wurde aus dem Vollblut von sechs Spendern gewonnen und bis zur Verwendung bei -20°C gelagert. Des Weiteren wurden 22 Serumproben, welche aus der notfallmedizinischen Versorgung von einem Musikfestival stammen, seit 2013 bei -20°C gelagert und für die Bestimmung von Methylonkonzentrationen mittels LC-ESI-MS/MS verwendet. Zur Untersuchung der letal verlaufenden Intoxikationen auf 5F-ADB sind Probenasservate von Blut, Urin, Organablaufflüssigkeiten bzw. Gewebekomogenaten analysiert worden.

### 3.5 Verbrauchsmaterialien

Die benötigten Verbrauchsmaterialien sind mit ihren Herstellern Tabelle 8 zu entnehmen.

**Tab. 8: Für die Versuchsdurchführungen verwendete Verbrauchsmaterialien**

Bezeichnung	Hersteller	
Phree Phospholipid Removal-Extraktionssäulen	Phenomenex	Torrance, USA
GC-MS-Säule: VF-5MS (25,0 m x 200 µm x 0,33 µm)	Agilent	Waldbronn, Deutschland
HPLC-DAD-Säule: LiChrosorb® RP-8 (250 mm x 4,0 mm i.d., 5 µm Partikelgröße, 100 Å)	Merck KGaA	Darmstadt, Deutschland
Vorsäule HPLC-DAD: RP-8 (25 mm x 4,0 mm i.d.)	Merck KGaA	Darmstadt, Deutschland
LC-ESI-MS/MS-Säule: ACE Excel 2 C-18 PFP (100 mm x 2,1 mm i.d.)	ACE Advanced Chromatography Technologies LTD	Aberdeen, Schottland
ShimPack FC-ODS-Säule (150 mm x 2,0 mm i.d.)	Shimadzu	Kyoto, Japan
Raptor Biphenyl-Säule (2,1 mm i.d. x 100 mm)	Restek	Bellefonte, PA, USA

### 3.6 Geräte

In Tabelle 9 sind die verwendeten Analysensysteme und deren Hersteller aufgelistet.

**Tab. 9: Verwendete Analysensysteme und Software für die praktischen Arbeiten**

Gerät	Bezeichnung	Hersteller
Evaporator	TurboVap® LV	Biotage, Uppsala, Schweden
LC-ESI-MS/MS	Pumpen: LC-30AD Entgaser: DGU-20A5r Autosampler: SIL-30AC Steuerungsmodul: CBM-20A Säulenofen: CTO-20AC Massenspektrometer 8050 Software: LC Solution 2.12	Shimadzu, Kyoto, Japan

Gerät	Bezeichnung	Hersteller
GC-MS	GC: 6890+ MSD: 5973 Software: Chemstation B.00.01	Agilent, Waldbronn, Deutschland
HPLC-DAD	HPLC-System Serie 20A Pumpe: LC-20AT Autosampler: SIL-20AC ht DAD: SPD-M20A Software: LC Solution®, Version 1.22	Shimadzu, Kyoto, Japan
NMR	Magritek Spinsolve® benchtop NMR 60 MHz Software: Spinsolve®  Bruker AVANCE 300 III: Probenköpfe: BBO, 5 mm (mit Gradienten); QNP (1H, 13C, 29Si, 31P), 5 mm; invers (1H, 13C), 5 mm; BB (109Ag - 31P), 10 mm; Probenwechsler, Temperiereinheit, Software: Topspin 2.3	Magritek GmbH, Aachen, Deutschland  Bruker Physik AG, Karlsruhe, Deutschland
Zentrifugen	Heareus Fresco 21  Centrifuge	Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland  Thermo Scientific, Waltham, USA
Schüttler	MS2 Minishaker  VIBRAX VXR  TS1 Thermo shaker	IKA, Staufen im Breisgau, Deutschland IKA, Staufen im Breisgau, Deutschland Biometra, Göttingen, Deutschland
pH Messgerät	HQ411d	Hach Lange GmbH, Düsseldorf, Deutschland
Feinwaage	Kern ABT 220-5DNM	KERN & SOHN GmbH, Balingen, Deutschland
Magnetrührer	IKAMAG	IKA, Staufen im Breisgau, Deutschland
Festphasenextraktions- einheit	Biotage® Pressure+ 48	Biotage, Uppsala, Schweden

### 3.7 Herstellung der Lösungen und Eluenten

#### 3.7.1 Lösungen zur Probenaufarbeitung und Fließmittel

##### Gesättigte Dinatriumhydrogenphosphatlösung ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ )

Für die Herstellung der  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ -Lösung ist  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  in 1 L deionisiertem Wasser unter Rühren bis zur Sättigung und Bildung eines Bodensatzes gelöst worden.

##### Fließmittel für die HPLC-DAD Analytik

Für die Herstellung des Phosphatpuffers (pH 2,3) wurden 5,2 mL Phosphorsäure (85 %) und 13,32 mg Kaliumhydrogenphosphat in 2 L deionisiertem Wasser gelöst. Der pH-Wert ist mittels pH-Meter (Glaselektrode) kontrolliert worden.

Zur Herstellung des Eluenten  $A_1$  wurden 400 mL ACN und 600 mL Phosphatpuffer (pH 2,3) im Verhältnis 1:1,5 (v:v) in eine entsprechende Braunglasflasche gemischt und entgast. Zur Herstellung des Eluenten  $A_2$  wurden 750 mL ACN und 450 mL Phosphatpuffer (pH 2,3) im Verhältnis 5:3 (v:v) in eine entsprechende Braunglasflasche gemischt und entgast.

##### Fließmittel für die LC-ESI-MS/MS Analytik

Für die BZD/Z-Drugs-Methode wurden zur Herstellung des Eluenten  $B_1$  63 mg Ammoniumformiat (10 mmol) sowie 1 mL  $\text{HCOOH}$  (0,1 %) in 1000 mL HPLC-Wasser und für den Eluenten  $B_2$  1 mL  $\text{HCOOH}$  (0,1 %) in 1000 mL MeOH gegeben.

Zur Herstellung des Eluenten  $SC_1$  wurden 63 mg Ammoniumformiat (10 mmol) sowie 1 mL  $\text{HCOOH}$  (0,1 %) in 1000 mL HPLC-Wasser gegeben und für den Eluenten  $SC_2$  wurde ACN mit 0,1 %  $\text{HCOOH}$  verwendet. Diese Eluenten sind für die LC-ESI-MS/MS-Methoden der SCRA und der Cathinone verwendet worden.

#### 3.7.2 Herstellung der Standardlösungen aus den Referenzsubstanzen

##### Stammlösungen

Zur Herstellung der Stammlösungen der isolierten SCRA aus den Räuchermischungen wurden jeweils 1 mg in 1 mL ACN gelöst.

Zur Herstellung der Stammlösungen aus den pulverförmigen Referenzstandards (siehe Tab. 32 unter 8.1) wurden jeweils 1 mg Substanz in 1 mL ACN gelöst.

##### Arbeitslösungen

Für die SCRA-Methode wurde aus allen Referenzstandards (Tab. 7) eine Arbeitslösung (AL) mit ACN von 1  $\mu\text{g/mL}$  (Mix SCRA) hergestellt. Aus diesem Mix SCRA sind folgende zwei AL durch Verdünnung mit ACN hergestellt worden: AL  $SCRA_1$  mit 10 ng/mL für den

Kalibrationsbereich von 0,1 ng/mL bis 0,5 ng/mL sowie für die niedrige Qualitätskontrolle (QC, 0,1 ng/mL) und AL SC<sub>2</sub> mit 100 ng/mL für den Kalibrationsbereich von 1,0 ng/mL bis 10 ng/mL sowie für die mittlere und hohe QC (1,0 ng/mL und 7,0 ng/mL).

Es wurde aus allen Referenzstandards der Cathinone eine AL mit ACN von 10 µg/mL (Mix C) hergestellt. Die deuterierten internen Standards sind in einer AL mit ACN auf eine Konzentration von 1 µg/mL verdünnt worden (Mix<sub>C</sub> ISTD). Aus dem Mix C ist die folgende AL durch Verdünnung mit ACN hergestellt worden: AL C<sub>1</sub> mit 1 µg/mL für den Kalibrationsbereich von 10 ng/mL bis 50 ng/mL sowie für die niedrige Qualitätskontrolle (15 ng/mL). Für den Kalibrationsbereich von 100 ng/mL bis 500 ng/mL sowie für die mittlere und hohe QC (150 ng/mL und 450 ng/mL) ist Mix C verwendet worden.

Aus den Referenzstandards der BZD/Z-Drugs (vollständige Auflistung siehe Tab. 33 im Anhang unter 8.1) wurde durch Verdünnen mit deionisiertem Wasser eine AL mit der Konzentration von 10 µg/mL (MIX B) hergestellt. Die deuterierten und isotopenmarkierten internen Standards sind in einer AL mit deionisiertem Wasser auf eine Konzentration von 0,4 µg/mL verdünnt worden (Mix<sub>B</sub> ISTD).

Aus Mix B sind die folgenden zwei AL durch Verdünnung mit Wasser hergestellt worden: AL B<sub>1</sub> mit 0,1 µg/mL für den Kalibrationsbereich von 1 ng/mL bis 5 ng/mL sowie für die niedrige Qualitätskontrolle (2 ng/mL) und AL B<sub>2</sub> mit 1 µg/mL für den Kalibrationsbereich von 10 ng/mL bis 50 ng/mL sowie für die mittlere Qualitätskontrolle (50 ng/mL). Für den Kalibrationsbereich von 100 ng/mL bis 200 ng/mL sowie für die hohe QC (200 ng/mL) ist Mix B verwendet worden.

### **3.8 Entwicklung von LC-ESI-MS/MS-Methoden zur Quantifizierung von 16 SCRA, 26 Cathinonen und 39 BZD/Z-Drugs aus Serumproben**

Im folgenden Abschnitt werden die Methoden für die Bestimmung der SCRA, Cathinone und BZD/Z-Drugs aus Serum mittels LC-ESI-MS/MS vorgestellt. In den Abschnitten 4.1.1, 4.1.2 und 4.1.3 wird ausführlich auf die Entwicklung der Methoden eingegangen. Die Methodenentwicklung der BZD/Z-Drugs-Methode wurde von Frau Felicia Möller im Rahmen einer Diplomarbeit durchgeführt [49], welche von mir mit betreut wurde.

#### **3.8.1 Probenvorbereitung der SCRA, Cathinone und BZD/Z-Drugs**

##### **3.8.1.1 Vergleich verschiedener Probenaufarbeitungsverfahren**

Für die Extraktion von SCRA aus Serumproben sind drei verschiedene Aufarbeitungsmethoden getestet worden. Für die Flüssig-Flüssig-Extraktionen (LLE) wurden

200 µL dotiertes Serum (mit AL SC<sub>2</sub>, entspricht 10 ng/mL) mit 10 µL internem Standard ADBICA-d<sub>9</sub> (100 ng/mL, entspricht 5 ng/mL) versetzt und jeweils mit BuCl und EA einzeln sowie mit sauren und basischen Zusätzen auf dem Schüttler (21°C, 1400 rpm) für 15 min extrahiert, wie in Tabelle 10 ersichtlich ist. Im Anschluss wurden die Proben 5 min zentrifugiert (21°C, 14800 rpm) und 100 µL des Überstandes unter Stickstoff bis zur Trockene eingengt. Danach wurde der Rückstand in 25 µL Starteluent in LC-Vial rekonstituiert.

Für die Fällung mit ACN wurden die oben genannten dotierten Serumproben 1 min auf dem Vortexer behandelt und anschließend 5 min zentrifugiert (21°C, 14800 rpm). Insgesamt 50 µL des Überstandes sind in ein LC-Vial überführt worden.

Für die Aufarbeitung der SCRA mittels der „Phree Phospholipid Tubes“ ist entsprechend den Herstellerangaben vorgegangen worden: 200 µL dotiertes Serum (mit AL SC<sub>2</sub>, entspricht 10 ng/mL) inklusive des internen Standards wurden auf die Säule gegeben (ohne die Wand zu berühren) und im Anschluss ACN bzw. ACN mit Säurezusatz in gleicher Weise zugegeben. Mithilfe der SPE-Einheit (Biotage® Pressure+ 48) wurde das Phospholipid-freie Eluat gewonnen. Dieses wurde bei 4000 rpm (21°C) für 3 min zentrifugiert und anschließend wurden 50 µL des Überstandes in ein LC-Vial überführt.

Tab. 10: Durchgeführte Extraktionsversuche für die SCRA-Bestimmung aus Serum

200 µL gespicktes Serum (10 ng/mL) + 10 µL ADBICA-d <sub>9</sub> +			
200 µL BuCl	200 µL EA	600 µL ACN	„Phree Phospholipid Tubes“
+ 100 µL NaOH	+ 100 µL NaOH		600 µL ACN
+ 100 µL Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	+ 100 µL Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>		600 µL ACN + 1 % HCOOH
+ 100 µL HCl	+ 100 µL HCl		
+ 100 µL AA	+ 100 µL AA		

Die Aufarbeitung der Cathinone erfolgte mit einer LLE mit BuCl angelehnt an die Probenvorbereitung für die basische Aufarbeitung von BtM im Institut für Rechtsmedizin Rostock. Zum Erreichen der maximalen Ausbeute für alle Analyten wurden folgende Extraktionsvarianten getestet:

1. 100 µL gespicktes Serum + 400 µL BuCl
2. 100 µL gespicktes Serum + 100 µL Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> + 400 µL BuCl
3. 100 µL gespicktes Serum + 100 µL Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> + 200 µL BuCl

Es sind jeweils 1 µL und 2 µL zur Analyse ins LC-System injiziert worden.



Für die Aufarbeitung der BZD/Z-Drugs wurden verschiedene Extraktionsmittel von Frau Möller untersucht. Die Versuchsreihen sind ausführlich in der Diplomarbeit von ihr beschrieben. [49]

### **3.8.1.2 Final eingesetzte Probenaufbereitungsverfahren**

#### SCRA

Für den Nachweis von SCRA wurden 200 µL Kalibrator / Realprobe mit 10 µL internem Standard ADBICA-d<sub>9</sub> (100 ng/mL, entspricht 5 ng/mL) versetzt und mit 100 µL 0,1 M Essigsäure sowie 200 µL BuCl auf dem Schüttler (21°C, 1400 rpm) für 15 min extrahiert. Im Anschluss wurden die Proben 5 min zentrifugiert (21°C, 14800 rpm) und 100 µL des Überstandes unter Druckluft bei 40°C bis zur Trockene eingengt. Danach wurde der Rückstand in 25 µL Starteluent im LC-Vial rekonstituiert.

Für die Analytik des humanen Probenmaterials der letal verlaufenden Intoxikationen (Blut, Urin, Organablaufflüssigkeiten und Gewebehomogenaten) wurden 0,5 mL Probe mit 0,5 mL 0,1 M HCl und 1 mL BuCl 20 min auf dem Schüttler extrahiert und im Anschluss bei 21°C mit 14800 rpm zentrifugiert. Vom Überstand sind 0,7 mL in ein LC-Vial überführt und bis zur Trockene eingengt worden. Die Extrakte wurden in 50 µL ACN rekonstituiert.

#### Cathinone

Für den Nachweis von Cathinonen wurden 100 µL Kalibrator / Realprobe mit 5 µL Mix<sub>C</sub> ISTD (1 µg/mL, entspricht 50 ng/mL) versetzt und mit 100 µL gesättigter Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>-Lösung sowie 200 µL BuCl auf dem Schüttler (21°C, 1400 rpm) für 10 min extrahiert. Im Anschluss wurden die Proben 5 min zentrifugiert (21°C, 14800 rpm) und 100 µL des Überstandes ins LC-Vial überführt.

#### BZD/Z-Drugs

Für den Nachweis von BZD/Z-Drugs wurden final 100 µL Kalibrator / Realprobe mit 50 µL Mix<sub>B</sub> ISTD (0,4 µg/mL, entspricht 20 ng/mL) versetzt und mit 400 µL BuCl auf dem Schüttler (21°C, 1400 rpm) für 15 min extrahiert. Im Anschluss wurden die Proben 5 min zentrifugiert und 100 µL des Überstandes ins LC-Vial überführt.

Für die Ringversuche „Benzodiazepine im Serum“ ist analog der obigen Aufarbeitung vorgegangen worden. Für den Ringversuch „Betäubungsmittel im Haar“ ist aus den ISTDs der zu quantifizierenden BZD/Z-Drugs eine AL mit 1 µg/mL hergestellt worden. Zu einer gemahlenen Haarprobe (19,6 mg) wurden 994 µL Methanol sowie 6 µL AL der ISTDs hinzugefügt (entspricht 6 ng der ISTDs) und 1 h im Ultraschallbad extrahiert. Nach Abnahme

des Überstandes erfolgte eine 5-minütige Zentrifugation (14800 rpm, 19°C). Der so gebildete Überstand ist in ein HPLC-Vial überführt und mittels LC-ESI-MS/MS vermessen worden.

### 3.8.2 Responsefaktoren

Zusätzlich zur Methodenentwicklung wurden die Responsefaktoren (Rf) für jeden Analyten zu seinem ISTD ermittelt, um im Einzelfall die Analytkonzentration in einer Probe quantitativ bestimmen zu können.

Für alle SCRA wurde ADBICA-d<sub>9</sub> als ISTD festgelegt. Für die folgenden zwölf Cathinone sind die angegebenen internen Standards festgelegt worden, da kein substanzanaloger isotope markierter Standard verfügbar war:

- 4-Fluorephedrin: 4-Methylephedrin-d<sub>3</sub>,
- Cathinon: Methcathinon-d<sub>3</sub>,
- Flephedron: 4MMC-d<sub>3</sub>,
- Methedron: Methylon-d<sub>3</sub>,
- Pentedron, N-Ethylpentylon: Pentylon-d<sub>3</sub>,
- PV-9: MDPV-d<sub>8</sub>
- HEX-EN, Mexedron: Diethylpropion-d<sub>10</sub>
- 4-CEC: Hydroxybupropion-d<sub>6</sub>
- TH-PVP, 2-DPMP: Naphyron-d<sub>5</sub>

Auch für die BZD/Z-Drugs konnte nicht für jeden Analyten der dazugehörige Standard erworben werden. Alprazolam-d<sub>5</sub> wurde als Standard für Adinazolam, Clonazolam, Flubromazolam, Flunitrazolam, Metizolam, Nitrazolam und Pyrazolam verwendet. 7-Aminoflunitrazepam-d<sub>7</sub> wurde als Standard für 3-Hydroxyflunitrazepam und Meclonazepam und Lorazepam-d<sub>4</sub> für Ketazolam und Nifloxipam ausgewählt. Diazepam-d<sub>5</sub> war ISTD für Pivoxazepam, Nimetazepam und Lormetazepam, Clobazam-<sup>13</sup>C<sub>6</sub> für Cloniprazepam und N-Desmethylflunitrazepam-d<sub>4</sub> für Desalkylflurazepam.

Aus Übersichtsgründen ist die Tabelle 35 mit den ermittelten Responsefaktoren im Anhang unter 8.3 zu finden.

### 3.8.3 Chromatographische Bedingungen

Die Analyse der SCRA, der Cathinone und der BZD/Z-Drugs wurde unter Verwendung eines LC-ESI-MS/MS 8050-Systems (Firma SHIMADZU, Kyoto, Japan) bestehend aus zwei LC Pumpen (LC-30AD), einer Degasser Unit (DGU-20A5r), einem Autosampler (SIL-30AC), einem Communication Bus Modul (CBM-20A), einem Säulenofen (CTO-20AC) und dem Massenspektrometer (MS-8050) durchgeführt. Die Daten wurden mithilfe der Software Lab Solution (Shimadzu) aufgenommen und verarbeitet. Die chromatographische Auftrennung

der Substanzen wurde final mit der Säule „ACE Excel 2 C18-PFP“ (100 mm x 2,1 mm i.d.) erreicht. In den folgenden Tabellen (Tab. 11 bis Tab. 13) sind die Parametereinstellungen der LC-ESI-MS/MS-Methoden für SCRA, Cathinone und BZD/Z-Drugs zusammengestellt.

Tab. 11: Parametereinstellung der LC-ESI-MS/MS-Methode für SCRA

Parameter	Einstellung
Eluent	SC <sub>1</sub> : 10 mM NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> COO <sup>-</sup> + 0,1 % HCOOH in H <sub>2</sub> O SC <sub>2</sub> : ACN + 0,1 % HCOOH
Flussrate	0,300 mL/min
Gradient	Starteluent: 70 % SC <sub>1</sub> und 30 % SC <sub>2</sub> 00,01 – 13,50 min: 30 – 80 % SC <sub>2</sub> 13,51 – 21,00 min: 95 % SC <sub>2</sub> 21,01 – 30,00 min: 30 % SC <sub>2</sub>
Temperatur Säulenofen	28°C
Fließgeschwindigkeit des Zerstäubungsgases (N <sub>2</sub> )	3 L/min
Fließgeschwindigkeit des Heizgases (N <sub>2</sub> )	5 L/min
Temperatur des Interfaces	300°C
Temperatur der Desolvation Line	250°C
Temperatur des Heizgases	400°C
Fließgeschwindigkeit des Trockengases (N <sub>2</sub> )	15 L/min
Injektionsvolumen	5 µL

Tab. 12: Parametereinstellung der LC-ESI-MS/MS-Methode für Cathinone

Parameter	Einstellung
Eluent	SC <sub>1</sub> : 10 mM NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> COO <sup>-</sup> + 0,1 % HCOOH in H <sub>2</sub> O SC <sub>2</sub> : ACN + 0,1 % HCOOH
Flussrate	0,400 mL/min
Gradient	Starteluent: 75 % SC <sub>1</sub> und 25 % SC <sub>2</sub> 00,01 – 04,00 min: 25 – 35 % SC <sub>2</sub> 04,01 – 12,00 min: 47 – 71 % SC <sub>2</sub> 12,01 – 15,00 min: 90 % SC <sub>2</sub> 15,01 – 18,00 min: 25 % SC <sub>2</sub>

Parameter	Einstellung
Temperatur Säulenofen	50°C
Fließgeschwindigkeit des Zerstäubungsgases (N <sub>2</sub> )	3 L/min
Fließgeschwindigkeit des Heizgases (N <sub>2</sub> )	5 L/min
Temperatur des Interfaces	300°C
Temperatur der Desolvation Line	230°C
Temperatur des Heizgases	230°C
Fließgeschwindigkeit des Trockengases (N <sub>2</sub> )	15 L/min
Injektionsvolumen	2 µL

Tab. 13: Parametereinstellung der LC-ESI-MS/MS-Methode für BZD/Z-Drugs

Parameter	Einstellung
Eluent	B <sub>1</sub> : 10 mM NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> COO <sup>-</sup> + 0,1 % HCOOH in H <sub>2</sub> O B <sub>2</sub> : MeOH + 0,1 % HCOOH
Flussrate	0,400 mL/min
Gradient	Starteluent: 50 % B <sub>1</sub> und 50 % B <sub>2</sub> 00,01 – 02,00 min: 50 – 52 % B <sub>2</sub> 02,01 – 10,50 min: 52 – 53 % B <sub>2</sub> 10,51 – 17,00 min: 53 – 59 % B <sub>2</sub> 17,01 – 20,00 min: 70 – 80 % B <sub>2</sub> 20,01 – 22,00 min: 85 – 95 % B <sub>2</sub> 22,01 – 26,00 min: 95 % B <sub>2</sub> 26,01 – 30,00 min: 50 % B <sub>2</sub>
Temperatur Säulenofen	40°C
Fließgeschwindigkeit des Zerstäubungsgases (N <sub>2</sub> )	3 L/min
Fließgeschwindigkeit des Heizgases (N <sub>2</sub> )	5 L/min
Temperatur des Interfaces	300°C
Temperatur der Desolvation Line	250°C
Temperatur des Heizgases	400°C
Fließgeschwindigkeit des Trockengases (N <sub>2</sub> )	15 L/min
Injektionsvolumen	5 µL

In Abbildung 10 sind die Flussgradienten der drei LC-ESI-MS/MS-Methoden für SCRA, Cathinone und BZD/Z-Drugs grafisch dargestellt.

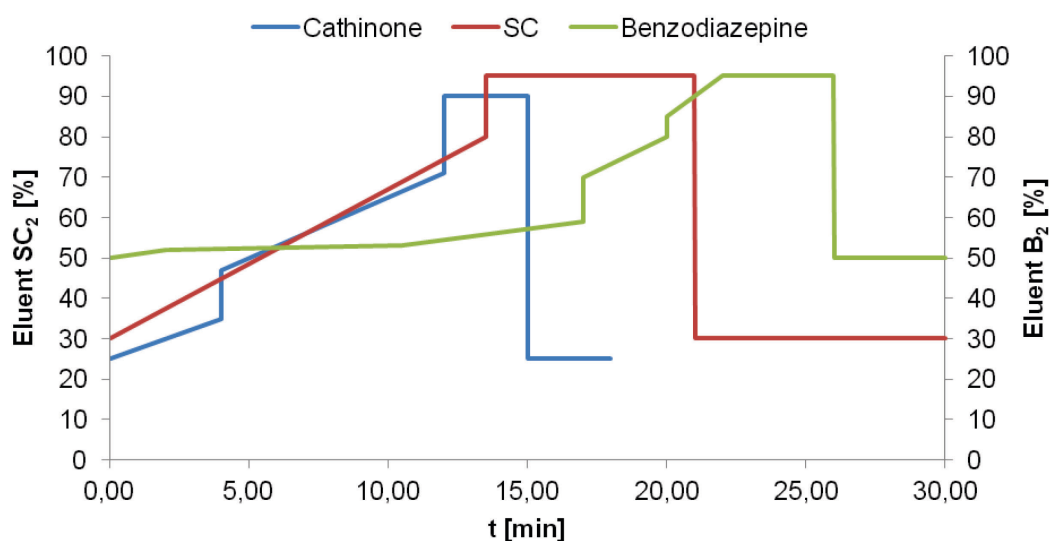


Abb. 10: LC-Flussgradienten der drei LC-ESI-MS/MS-Methoden

Für die Bestimmung von 5F-ADB und dessen zwei Hauptmetaboliten im humanen Probenmaterial der beschriebenen Todesfälle 1 bis 3 aus 2016 wurde zunächst eine eigene LC-ESI-MS/MS-Methode entwickelt, bevor die oben beschriebene Multikomponenten-Methode für SCRA erarbeitet wurde. Die Eluentenzusammensetzung und die ESI-Parameter sind die gleichen wie in der Multikomponenten-Methode (Vgl. Tab. 11). Die chromatographische Trennung erfolgte auf einer „Shim-Pack FC-ODS“-Säule (2,0 mm i.d. x 150 mm Länge, 3 µm) von Shimadzu mit folgendem Gradienten: von 0,01 bis 12 min von 5 % auf 95 % SC<sub>2</sub>; von 12,01 bis 20 min 95 % SC<sub>2</sub> und von 20,01 bis 30 min Reequilibrierung mit 5 % SC<sub>2</sub>.

### 3.9 Methodenvvalidierung der LC-ESI-MS/MS-Methoden zum Nachweis von SCRAs, Cathinonen und BZD/Z-Drugs

Die Validierung der Analysenmethoden für den Nachweis von SCRA, Cathinonen und BZD/Z-Drugs in Serum erfolgte gemäß den Richtlinien der Gesellschaft für Toxikologische und Forensische Chemie (GTFCh) [50].

Im Anhang im Kapitel 8.4 sind in den Tabellen 36 bis 41 die Validierungsergebnisse (Linearität, Genauigkeit, Präzision, Matrixeffekte, Wiederfindungsrate und Extraktionsausbeute) der Methoden und Analyte aufgeführt.

### 3.9.1 Bestimmung der Selektivität und Spezifität

Zur Bestimmung der Selektivität (Ausschluss von möglichen Interferenzen endogener und exogener Substanzen) wurden je Methode 6 Leerserumproben (ohne Analyten und interne Standard Mixe) und zwei Nullserumproben mit dem jeweiligen Standard-Mix (ADBICA-d<sub>9</sub>, Mix<sub>C</sub> ISTD, Mix<sub>B</sub> ISTD) gemessen.

Zur Überprüfung der Spezifität (Ausschluss von möglichen Interferenzen durch andere Substanzklassen) ist jede Methode mit aufgestockten Leerserumproben mit den Substanzen der anderen beiden Methoden (Mix SCRA, Mix C) gemessen worden.

### 3.9.2 Bestimmung der Linearität, Genauigkeit und Stabilität

Zur Bestimmung der Linearität der Kalibrierfunktionen wurden mit jeder LC-ESI-MS/MS-Methode mindestens fünf Kalibratoren an sechs verschiedenen Tagen gemessen. Zur Herstellung der Kalibratoren sind die im Kapitel 3.7.2 beschriebenen Arbeitslösungen verwendet worden. Die Konzentrationen für die Kalibratoren und QC der drei LC-ESI-MS/MS Methoden für SCRA, Cathinone und BZD/Z-Drugs sind in Tabelle 14 dargestellt. Da mehr Kalibratoren in den einzelnen Methoden mitgeführt wurden als mindestens nötig, können die Kalibrierbereiche den Anforderungen der einzelnen Analyte (niedrigere bzw. höhere Konzentrationen) angepasst werden.

Für die Bestimmung der Genauigkeit sind jeweils drei Qualitätskontrollproben (QC) mit verschiedenen Konzentrationsniveaus aus den Arbeitslösungen hergestellt worden und an acht verschiedenen Tagen je zwei QC pro Konzentrationsniveau analysiert worden. Die statistische Auswertung der Linearität, u.a. die Prüfung auf Ausreißer (Grubbs-Test: Signifikanz 99 %), die Prüfung auf Varianzhomogenität (F-Test: Signifikanz 99 % und Mandel-Test: Signifikanz 99 %), und die statistische Auswertung der Genauigkeit (Bias, Wiederhol- und Laborpräzision) erfolgte mit der Software Valistat 1.0.

Zur Überprüfung der Stabilität der Substanzen wurden sechs QC des niedrigen und hohen Konzentrationsniveaus der jeweiligen Methode innerhalb der Bearbeitungszeiten in der Routine untersucht. Zur Beurteilung der Abweichungen, die maximal 25 % zwischen den Prüftagen betragen dürfen, wurden die absoluten Peakflächen der Analyte verwendet.

Tab. 14: Konzentrationen der Kalibratoren und QC für die drei LC-ESI-MS/MS Methoden

Kalibrator/QC	SCRA [ng/mL]	Cathinone [ng/mL]	BZD/Z-Drugs [ng/mL]
Kal 1	0,1	10	1,0
Kal 2	0,5	20	2,0
Kal 3	1,0	50	5,0
Kal 4	2,0	100	10
Kal 5	5,0	200	20
Kal 6	7,0	300	50
Kal 7	10	400	100
Kal 8	-	500	200
QC 1	0,1	15	2,0
QC 2	1,0	150	50
QC 3	7,0	450	200

### 3.9.3 Bestimmung der analytischen Kenngrößen

#### 3.9.3.1 Nachweis- und Bestimmungsgrenze

Zur Bestimmung der Nachweisgrenze („limit of detection“, LOD) und Bestimmungsgrenze („lower limit of quantification“, LLOQ) ist die DIN 32645 angewandt worden. Dafür wurden die Kalibratoren (Tab. 14) mit Valistat statistisch ausgewertet. Bei der Bestimmung der LLOQ mussten die Kriterien für Richtigkeit ( $\pm 20\%$ ) und Präzision ( $\leq 20\%$ ) bei einer Signifikanz von 99 % eingehalten werden.

#### 3.9.3.2 Wiederfindung, Matrixeffekte und Extraktionsausbeute

Zur Bestimmung der Wiederfindung, Matrixeffekte und Extraktionsausbeuten sind für jede Substanzklasse jeweils die hohe QC (7 ng/mL SCRA, 450 ng/mL Cathinone, 200 ng/mL BZD/Z-Drugs) und die niedrige QC (1,0 ng/mL SCRA, 15 ng/mL Cathinone, 2 ng/mL BZD/Z-Drugs) als Konzentrationen ausgewählt worden und nach dem Verfahren von Matuszewski et al. [51] gemessen worden. Dafür wurden sechs Proben jeder QC in fünf verschiedenen Leermatrixquellen (von fünf verschiedenen Spendern) hergestellt. Es gab die folgenden drei Sets zu messen:

Set 1 – Die niedrigen und hohen QC wurden als Reinsubstanz gemessen (Mix SCRA, Mix C und Mix B).

Set 2: Die fünf verschiedenen Leerseren wurden mit den Analyten und internen Standards entsprechend den QC Konzentrationen dotiert und im Anschluss extrahiert und gemessen (siehe Probenaufarbeitung).

Set 3: Die fünf verschiedenen Leerseren wurden aufgearbeitet und die Extrakte sind mit den Analyten und internen Standards entsprechend den Konzentrationen der QC dotiert worden.

Die Wiederfindung wird als Verhältnis der absoluten Peakflächen der dotierten Matrixproben zu den absoluten Peakflächen der dotierten Extrakte (in Prozent) bestimmt (möglichst > 50 %).

Der Matrixeffekt wird als Verhältnis der absoluten Peakflächen der dotierten Extraktionsproben zu den absoluten Peakflächen der Reinsubstanzen (in Prozent) bestimmt (Akzeptanzintervall von 75 – 125 %).

Zur Bestimmung der Extraktionsausbeute wird das Verhältnis der absoluten Peakflächen der dotierten Matrixproben zu den absoluten Peakflächen der Reinsubstanzen (in Prozent) bestimmt (möglichst > 50 %).

### 3.10 Qualitative Analytik der Substanzproben

#### 3.10.1 Probenvorbereitung Stoffproben

##### Kräuterpäckchen

Zur Identifikation der jeweiligen Substanzen in den Kräutermischungen wurden die Gesamtmengen der einzelnen Päckchen mittels einer Feinwaage bestimmt und anschließend die Proben homogenisiert. Je 10 g der Probenmenge wurde ein Aliquot à 500 mg genommen. Bei Päckchen mit einem Gewicht  $\leq 1$  g wurden 200 mg eingewogen. Die Aliquote sind mit 10 mL ACN für 1 h im Ultraschallbad extrahiert worden. Zur Bestimmung der Inhaltsstoffe wurden 10  $\mu$ L Extrakt und 990  $\mu$ L EA in ein GC-Vial pipettiert und mittels GC-MS sowie der Spektrenbibliotheken von Cayman Chemicals [52] und SWGDrug [53] analysiert und ausgewertet. [54]

##### Pulverproben

Die 260 Tütchen mit den verschiedenen Pulvern und Kristallen sollten qualitativ untersucht werden. Dazu wurden je ein Aliquot aus den einzelnen Tütchen in Eppendorf-Vials übernommen und 1 mL MeOH hinzugegeben. Die Proben sind auf dem Schüttler für 10 min extrahiert, bis zur Trockene eingengt und anschließend mit 80  $\mu$ L Acetanhydrid und 20  $\mu$ L



Pyridin bei 80°C für 30 min acetyliert worden. Das Derivatisierungsreagenz wurde dann abgedampft und der Rückstand in 1 mL EA wieder aufgenommen.

Zusätzlich sind die Extrakte mit HPLC-DAD, LC-ESI-MS/MS und NMR analysiert worden, wenn die GC-MS Analyse nicht zu einem eindeutigen Ergebnis kam. Lösungsmittel für die NMR-Analysen waren D<sub>2</sub>O sowie CD<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> und für die Flüssigchromatographie-Analysen BuCl. [55]

### 3.10.2 GC-MS-Methode zur Identifikation von Substanzen in Spurenmaterial

Die unter Kapitel 3.10.1 aufgearbeiteten Stoffproben wurden qualitativ mittels GC-MS analysiert. Die Analysenparameter entsprachen denen der routinemäßigen Screening-Methode des Labors (Tab. 15).

Tab. 15: Analysenparameter der qualitativen GC-MS-Methode

Parameter	Einstellung
Front Inlet Modus	splitless
Front Inlet Temperatur	290°C
Trennsäule	VF-5MS (30,0 m x 250 µm i.d. x 0,25 µm Filmdicke)
Trärgas und Flussrate	Helium, 0,9 mL/min
Temperaturprogramm des Ofens	80°C – 150°C mit 20°C/min 150°C – 300°C mit 10°C/min, 300°C für 8,5 min halten Laufzeit: 30 min
Temperatur Transferline	280°C
Quellentemperatur	230°C
Ionisationsart und -energie	Elektronenstoßionisation, 70 eV
Messmodus	Scan
Massenbereich	40 – 700

Für die Spektrenanalysen wurden die Software Chemstation und die Spektrenbibliotheken von Cayman Chemicals [52] und SWGDrug [53] in ihrer zum Zeitpunkt der Messung aktuellsten Version verwendet.

### 3.10.3 NMR-Analytik

Bei einer mittels GC-MS nicht eindeutig zu identifizierenden Substanz wurden neben HPLC-DAD und LC-ESI-MS/MS zusätzlich NMR-Analysen angewandt. Die Analysen wurden bei der Firma Magritek GmbH mit dem Spinsolve® benchtop NMR und am Institut für Chemie der Universität Rostock bei Herrn Dr. Michalik mit dem Bruker AVANCE durchgeführt. Es wurden die deuterierten Lösungsmittel D<sub>2</sub>O sowie CD<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> verwendet. Die Spektren wurden bei Raumtemperatur in den folgenden Modi aufgenommen: <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C, DEPT, HSQC-ME, HMBC. Die Spektrenauswertung erfolgte mit der Software Spinsolve® (Magritek) bzw. der Software TOPSPIN, Version 2.3 (Bruker).

### 3.11 Quantitative Analytik der synthetischen Cannabinoide aus Stoffproben mittels HPLC-DAD

Zur quantitativen Analyse der Kräutermischungen mittels HPLC-DAD sind 10 µL der gewonnenen Extrakte (Aufarbeitung siehe 3.10.1) und 90 µL Eluent A<sub>1</sub> bzw. A<sub>2</sub> in ein LC-Vial überführt worden.

Die flüssigchromatographische Bestimmung der SCRA wurde unter Verwendung eines HPLC-Systems (Serie 20, SHIMADZU, Kyoto, Japan) bestehend aus Eluentenreservoir, Pumpe, Autosampler und Diodenarraydetektor durchgeführt. Die Daten wurden mithilfe der Software LC Solution® Version 1.22 (Shimadzu) aufgenommen und verarbeitet. Die chromatographische Auftrennung der Substanzen wurde mit einer LiChrosorb® RP-8 Säule (250 mm x 4,0 mm i.d., 5 µm Partikelgröße, 100 Å Porengröße) erreicht, welche durch eine Vorsäule des gleichen Materials (25 mm x 4,0 mm i.d.; Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland) geschützt wurde. Der Detektor erfasste alle Substanzspektren in einem Wellenlängenbereich von 200 nm bis 370 nm (Deuterium-Lampe).

Für 5F-AB-PINACA wurde der Eluent A<sub>1</sub> (ACN : Phosphatpuffer = 1 : 1,5 (v:v)) verwendet. Die Substanz hatte eine Retentionszeit (t<sub>R</sub>) von 7 min. Die Analysendauer für die Stoffproben betrug 50 min mit einer Flussrate von 1,5 mL/min, damit weitere mögliche Substanzen in den Proben erfasst werden konnten.

Für 5F-ADB, MMB-CHMICA, AB-CHMINACA, AB-FUBINACA, AB-PINACA, ADB-PINACA, 5F-MDMB-PICA und 5F-CUMYL-P7AICA wurde der Eluent A<sub>2</sub> (ACN : Phosphatpuffer = 5 : 3 (v:v)) verwendet. Die angewandte Methode hatte eine Analysendauer von 30 min und eine steigende Flussrate von 0,75 mL/min (0 bis 15 min) auf 1,5 mL/min (15 bis 30 min). Die t<sub>R</sub> der Substanzen ergaben sich wie folgt: 10,5 min für 5F-ADB, MMB-CHMICA (11,5 min), AB-CHMINACA (7,5 min), AB-FUBINACA (5,3 min), AB-PINACA (5,0 min), ADB-PINACA (7,2 min) und 5F-MDMB-PICA (8,4 min).

Die Quantifizierung erfolgte bei der Wellenlänge 225 nm mittels externer Kalibrierung. Um den Konzentrationsbereich in den Proben abschätzen zu können, wurden zunächst die Messungen der jeweiligen Realprobe mit den Messungen der darin identifizierten Substanz in definierter Konzentration von 50 µg/mL verglichen. Anhand dieser Ergebnisse sind die Kalibrationsbereiche festgelegt worden. In Tabelle 16 sind alle Kalibrationen für die neun SCRA aufgelistet.

**Tab. 16: Kalibrationsbereiche der neun zu quantifizierenden SCRA**

Analyt	Konzentration [µg/mL]									
5F-AB-PINACA	20	30	40	50	60	70	80	90	100	150
5F-ADB	20	30	40	50	60	70	80	90	100	150
MMB-CHMICA	50	70	80	90	100	110	120	130	150	200
AB-CHMINACA*	50	70	80	90	100	110	120	130	150	200
AB-FUBINACA*	150	175	200	225	250	275	300			
AB-PINACA	50	70	80	90	100	110	120	130	150	200
ADB-PINACA	10	25	30	35	40	50	75	100	125	
5F-MDMB-PICA	50	100	125	150	175	200	225	275	300	
5F-CUMYL-PICA*	100	150	200	250	300	350	400	450	500	700

\*Da zum Zeitpunkt der Messungen kein Standard für AB-CHMINACA, AB-FUBINACA und 5F-CUMYL-P7AICA zur Verfügung stand, wurden mittels  $t_R$  und UV-Spektrum geeignete Standards ausgewählt und über die Molmassen zurück gerechnet: für AB-CHMINACA erfolgte die Kalibration mit AB-PINACA, für AB-FUBINACA mit ADB-FUBINACA und für 5F-CUMYL-P7AICA mit 5F-CUMYL-PICA.

## 4. Ergebnisse

### 4.1 Entwicklung und Validierung von LC-ESI-MS/MS-Methoden für die Bestimmung von SCRA, Cathinonen und BZD/Z-Drugs

Mit dem Auftreten der sichergestellten Päckchen mit Kräutermischungen, der Todesfälle mit 5F-ADB und den dabei sichergestellten Substanzen erschien es als notwendig, eine Multitarget-Methode für die detektierten SCRA und BZD/Z-Drugs im Serum zu entwickeln. Des Weiteren wurde eine Multitarget-Methode für synthetische Cathinone erarbeitet, welche die zweite große Gruppe der neu auftretenden Substanzen auf dem europäischen Markt darstellt und mit Methylon bereits 2013 im Untersuchungsmaterial des Institutes für Rechtsmedizin aufgetreten ist.

#### 4.1.1 Entwicklung und Validierung einer LC-ESI-MS/MS-Methode für SCRA

##### 4.1.1.1 Methodenentwicklung der LC-ESI-MS/MS-Methode für SCRA

Für die LC-ESI-MS/MS-Methode fand das „Multiple Reaction Monitoring“ (MRM) als Messmodus Anwendung. Am Beispiel von 5F-ADB soll dieses Vorgehen gezeigt werden. Zunächst wurde das Precursor-Ion der Standardsubstanz ermittelt ( $m/z$  378,10) und im Anschluss sind im Produktionen-Scan des Precursors mindestens drei Ionen gemessen worden. Für 5F-ADB lauten die MRM-Übergänge: 378,10>145,00; 213,10; 233,30. Pro Substanz sind die zwei intensivsten und chromatographisch ungestörtesten MRM-Übergänge (Quantifier und Qualifier) in die Methode übernommen worden (378,10>233,00 und 378,10>145,00). Diese experimentell ermittelten MRM-Übergänge wurden hinsichtlich ihrer Precursor-Ionen (Q1), Q1-Spannungen, Produkt-Ionen (Q3), Q3-Spannungen und Kollisionsenergien (CE) optimiert. Die optimierten MS-Parameter für 5F-ADB und die anderen SCRA sind in Tabelle 17 zusammengefasst, die Quantifier wurden hervorgehoben.

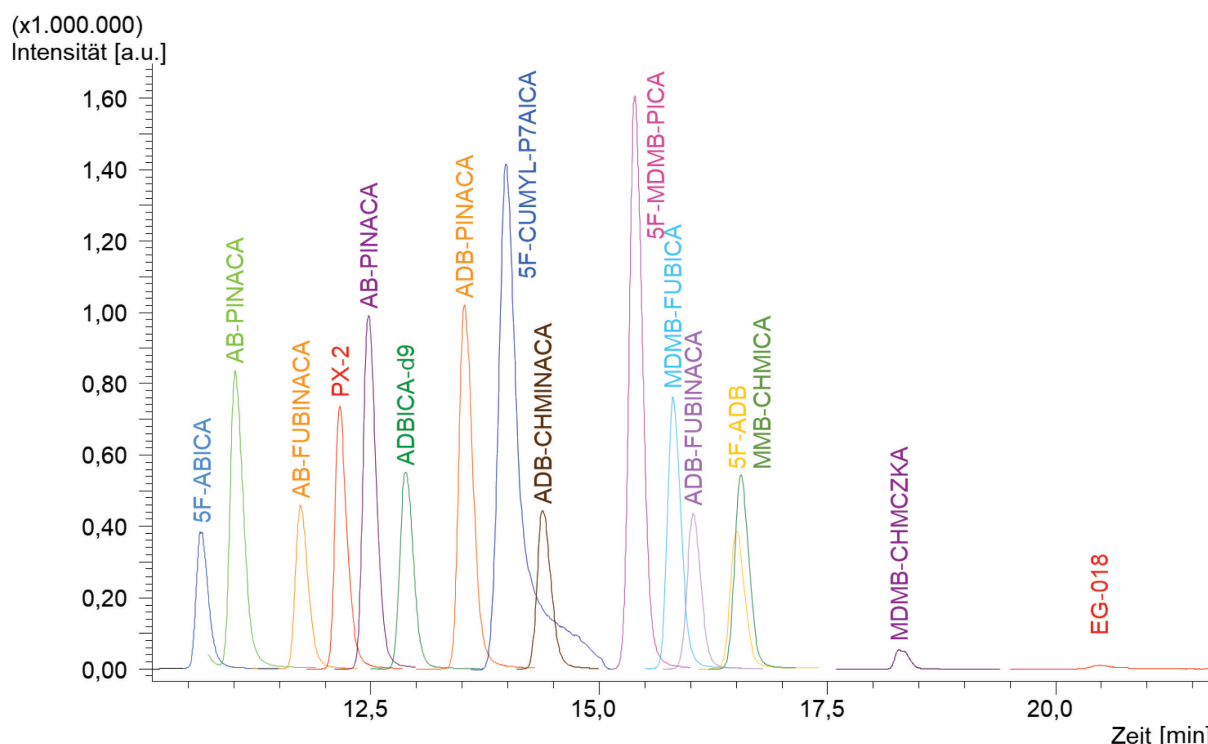
Tab. 17: Übersicht der Retentionszeiten, MRM-Übergänge und der optimierten MS/MS-Parameter

Analyt	$t_R$ [min]	Q1 [ $m/z$ ]	Q3 [ $m/z$ ]	Q1 Spannung [V]	CE [V]	Q3 Spannung [V]
5F-ABICA	10,6	348,30	<b>232,10</b>	-24	-21	-26
			144,00	-24	-37	-28
5F-AB-PINACA	10,9	348,93	<b>233,00</b>	-16	-24	-25
			144,90	-16	-42	-16
5F-ADB	16,4	377,90	144,90	-18	-43	-28
			<b>233,00</b>	-18	-25	-26

# Ergebnisse

Analyt	t <sub>R</sub> [min]	Q1 [m/z]	Q3 [m/z]	Q1 Spannung [V]	CE [V]	Q3 Spannung [V]
5F-CUMYL-P7AICA	13,9	367,90	144,90	-13	-41	-29
			<b>174,00</b>	-25	-35	-19
5F-MDMB-PICA	15,3	377,30	<b>232,10</b>	-25	-19	-16
			144,00	-25	-40	-29
AB-FUBINACA	11,7	368,90	<b>253,00</b>	-17	-25	-27
			109,10	-26	-41	-20
AB-PINACA	12,4	330,90	<b>215,00</b>	-16	-27	-23
			145,00	-22	-38	-29
ADB-CHMINACA	14,3	370,90	<b>241,20</b>	-29	-28	-26
			144,90	-18	-41	-10
ADB-FUBINACA	16,0	383,90	253,10	-24	-24	-27
			<b>109,10</b>	-18	-40	-23
ADB-PINACA	13,5	344,90	<b>215,00</b>	-17	-24	-24
			145,10	-16	-40	-29
EG-018	20,4	<b>392,40</b>	<b>155,00</b>	-27	-25	-11
		391,90	127,00	-18	-49	-24
MDMB-CHMCZCA	18,3	435,00	<b>290,00</b>	-15	-24	-21
			194,10	-21	-41	-21
MDMB-FUBICA	15,7	396,90	<b>252,10</b>	-19	-18	-27
			109,10	-19	-37	-21
MMB-CHMICA	16,5	370,90	<b>240,00</b>	-30	-19	-26
			144,10	-18	-39	-28
PX-2	12,1	396,90	<b>233,00</b>	-19	-26	-16
			145,00	-19	-45	-27
ADBICA-d <sub>9</sub> (ISTD)	12,8	353,40	<b>223,10</b>	-24	-25	-24
		353,00	144,90	-24	-42	-28

In Abbildung 11 ist ein LC-ESI-MS/MS-Chromatogramm der optimierten SCRA-Methode bei gleicher Konzentration der Analyte dargestellt.



**Abb. 11: LC-ESI-MS/MS-Chromatogramm der optimierten Methode zum Nachweis von SCRA**

Da die SCRA meist in sehr geringen Konzentrationen im Serum zu finden sind, war es notwendig optimale Extraktionsbedingungen zu erzielen. Getestet wurden LLE mit BuCl und EA einzeln sowie mit sauren und basischen Zusätzen, die Fällung mit ACN und die Abtrennung der Phospholipide mit „Phree Phospholipid Tubes“. Bei der Auswertung der Extraktionsversuche zeigte die LLE mit 200  $\mu$ L BuCl und 100  $\mu$ L AA die beste Extraktionsleistung für alle 16 SCRA. Eine Änderung des pH-Wertes in der wässrigen Phase führte zu einer deutlichen Extraktionssteigerung für die lipophilen Analyten. Daher wurden noch zwei weitere polare Lösungsmittel für die Extraktion mit BuCl getestet: ACN und MeOH jeweils im Verhältnis zu BuCl 1:5 (v:v) (Abb. 12). Besonders für die Analyten ab einer Retentionszeit von 15 min (u.a. 5F-MDMB-PICA, 5F-ADB, MMB-CHMICA) erreichten die Extraktionssteigerungen mit BuCl+AA das Doppelte bis Fünffache gegenüber den Ausbeuten mit BuCl+MeOH bzw. BuCl+ACN. Für 5F-ADB konnte die Extraktionsausbeute um 33 % gesteigert werden. Analyten wie 5F-AB-PINACA und PX-2 zeigten dagegen nur minimale Unterschiede in den Ausbeuten bei den drei Extraktionsmitteln, sodass für alle Analyten das Extraktionsmittel BuCl+AA final gewählt wurde.

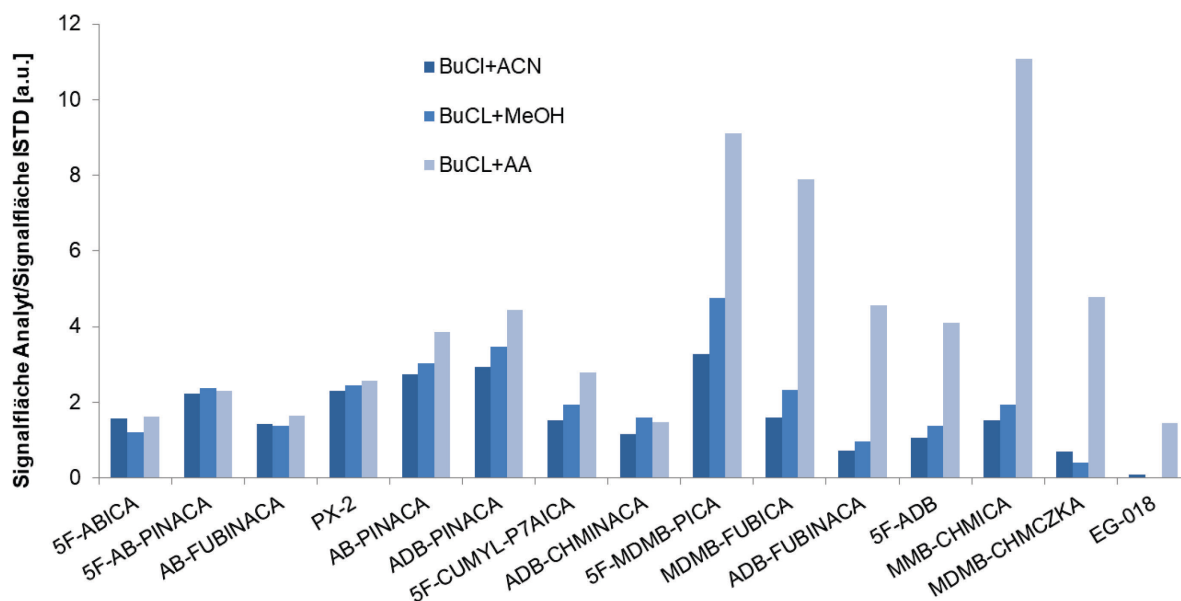


Abb. 12: Extraktionsausbeuten für SCRA nach LLE mit BuCl und Zusätzen als Extraktionsmittel

#### 4.1.1.2 Methodenvvalidierung der LC-ESI-MS/MS-Methode für SCRA

Die Validierung der LC-ESI-MS/MS Methode für SCRA erfolgte entsprechend den Richtlinien der GTFCh [50].

##### Selektivität, Spezifität, Linearität, Genauigkeit und Stabilität

Bei dem etablierten Verfahren sind in den Leer- und Nullproben keine Interferenzen aufgetreten, sodass für die Methode die Selektivität gegeben ist. Die Spezifität der Methode ist mit den Cathinonen und den BZD/Z-Drugs der validierten LC-ESI-MS/MS Methoden getestet worden und ergab keine Störfaktoren oder Interferenzen.

Die Linearität ist für die Substanzen der SCRA-Gruppe im Kalibrationsbereich von 0,1 - 10 ng/mL nachgewiesen worden. Die ermittelten Kalibrierfunktionen und Bestimmtheitsmaße für 5F-ADB (Abb. 13) und für die weiteren SCRA sind im Anhang (Tab. 36, 8.4) abgebildet.

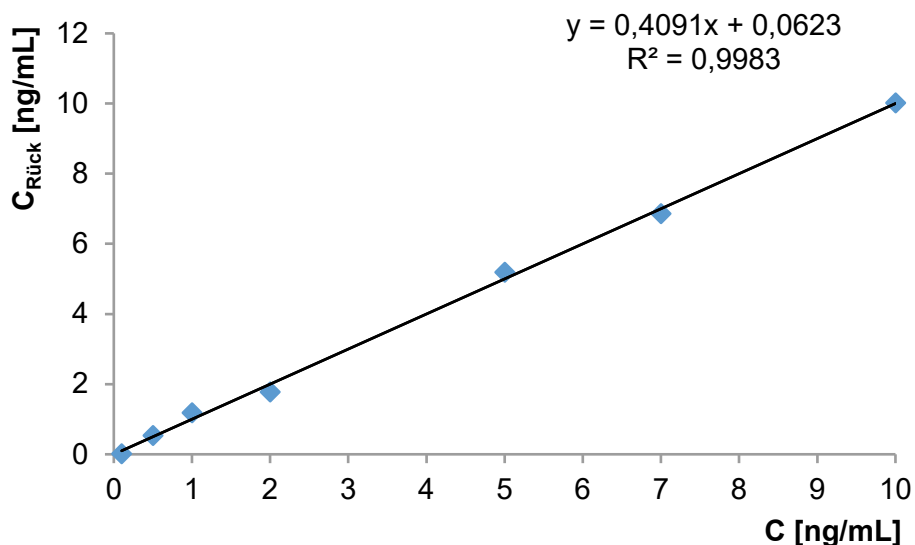


Abb. 13: Kalibrierfunktion und Bestimmtheitsmaß von 5F-ADB im Serum (n=6)

Aufgrund des großen Kalibrierungsbereiches, damit möglichst viele authentische Proben abgedeckt werden, wurden die Kalibratoren mit dem Faktor  $1/x$  gewichtet, um Homoskedastizität zu erreichen. Eine Ausnahme hiervon stellt die Substanz EG-018 dar. Diese zeigte keine Proportionalität zwischen der Konzentration und der korrespondierenden Analytfläche, sodass für diesen Analyten nur eine qualitative Aussage getroffen werden kann. EG-018 wurde daher in die Validierung der Methode nicht weiter einbezogen.

Aufgrund der höheren Nachweis- (LOD) bzw. Bestimmungsgrenzen (LLOQ) im Vergleich zum kleinsten Kalibrator (0,1 ng/mL) mussten die Arbeitsbereiche der Substanzen angepasst werden (Tab. 18). Für 5F-ABICA, 5F-AB-PINACA, AB-FUBINACA, PX-2, AB-PINACA, ADB-PINACA und ADB-CHMINACA zeigte die niedrige QC (0,1 ng/mL) den Richtlinien entsprechende Ergebnisse für Genauigkeit und Präzision, weshalb der Kalibrationsbereich von 0,1 – 10 ng/mL beibehalten wurde. Für 5F-MDMB-PICA, 5F-ADB, ADB-FUBINACA, MDMB-FUBICA, MMB-CHMICA und MDMB-CHMCZCA wurde der Arbeitsbereich von 1,0 – 10 ng/mL festgelegt. Auch hierfür zeigte die mittlere QC (1,0 ng/mL) valide Ergebnisse. Für 5F-CUMYL-P7AICA wurde aufgrund der LLOQ von 0,949 ng/mL ein Arbeitsbereich von 1,0 – 10 ng/mL definiert, jedoch erfolgte die Kalibrierung ohne den internen Standard ADBICA- $d_9$  (besseres Bestimmtheitsmaß).

Die Genauigkeit ist für die meisten Substanzen der SCRA-Gruppe anhand der QC-Proben (0,1; 1,0 und 7,0 ng/mL) in den erforderlichen Grenzen für Richtigkeit und Präzision bewiesen worden. Für 5F-MDMB-PICA, 5F-ADB, ADB-FUBINACA und MMB-CHMICA erfüllten die mittlere und die hohe QC diese Kriterien, sodass hier ebenfalls gemäß den Richtlinien validiert wurde. MDMB-CHMCZCA wies lediglich eine Laborpräzision für beide Konzentrationsniveaus von >20 % auf, lag jedoch bei Richtigkeit und Wiederholpräzision in den erforderlichen Grenzen. Die Substanz 5F-CUMYL-P7AICA erfüllte trotz Linearität im



Bereich von 1,0 – 7,0 ng/mL nur die Kriterien für die QC 7,0 ng/mL. Somit können für diese Substanz semiquantitative Ergebnisse erzielt werden. Die ausführlichen Ergebnisse für Richtigkeit und Präzision sind in Tab. 36 im Anhang (8.4) zu finden.

Die Kriterien zur Stabilität (Abweichung <25 % zwischen den Prüftagen) wurden für alle Analyten im niedrigen und hohen Konzentrationsbereich während der Bearbeitungszeiten erfüllt.

#### Analytische Kenngrößen

Die Grenzen der Nachweisbarkeit (LOD) und der Bestimmung (LLOQ) für die SCRA sind mithilfe der Valistat Software (unter Einhaltung der DIN ISO 32645) errechnet worden und in Tabelle 18 zusammengefasst. Die LLOQ aller 14 SCRA lag oberhalb des niedrigsten Kalibrators (0,1 ng/mL). Aufgrund der Signal-Rausch-Verhältnisse des kleinsten Kalibrators von >3 (LOD) bzw. von >10 (LLOQ) wurde der Kalibrierbereich für sieben SCRA nicht eingeschränkt. Die anderen sieben SCRA wiesen einen LOD >0,25 ng/mL auf, sodass die Arbeitsbereiche der Analyten unter Berücksichtigung der Genauigkeitskriterien eingeschränkt wurden (siehe Linearität).

**Tab. 18: Kalibrierbereich, LOD und LLOQ der SCRA mittels LC-ESI-MS/MS-Methode für Serumproben**

Analyt	Kalibrierbereich	LOD [ng/mL]	LLOQ [ng/mL]
5F-ABICA	0,1 – 10	0,086	0,302
5F-AB-PINACA	0,1 – 10	0,115	0,827
5F-ADB	1,0 – 10	0,376	1,212
5F-CUMYL-P7AICA	1,0 – 10	0,288	0,949
5F-MDMB-PICA	1,0 – 10	0,254	0,843
AB-FUBINACA	0,1 – 10	0,227	0,761
AB-PINACA	0,1 – 10	0,237	0,790
ADB-CHMINACA	0,1 – 10	0,101	0,353
ADB-FUBINACA	1,0 – 10	0,300	0,986
ADB-PINACA	0,1 – 10	0,183	0,621
MDMB-CHMCZCA	1,0 – 10	0,511	1,599
MDMB-FUBICA	1,0 – 10	0,388	1,248
MMB-CHMICA	1,0 – 10	0,318	1,041
PX-2	0,1 – 10	0,127	0,439

Die Wiederfindung lag bei Bestimmung der niedrigen und hohen Konzentrationen (0,1 ng/mL, 7,0 ng/mL) mit Ausnahme von zwei Substanzen über der Grenze von 50 %. Viele der hydrophileren Substanzen wiesen eine Wiederfindung von oberhalb 100 % auf. MDMB-CHMCZCA zeigte lediglich bei der hohen Konzentration eine Wiederfindung von unter 50 %. Da im niedrigen Konzentrationsbereich eine ausreichende Wiederfindung gegeben war, können alle Substanzen verlässlich detektiert werden.

Die Matrixeffekte lagen für 5F-ABICA, 5F-AB-PINACA, 5F-MDMB-PICA, AB-FUBINACA, AB-PINACA und PX-2 für beide Konzentrationsniveaus innerhalb der Grenze von 75 – 125 %. Die restlichen Substanzen scheinen stärker durch die Matrix belastet zu sein. Für 5F-ADB, 5F-CUMYL-P7AICA, ADB-CHMINACA, ADB-FUBINACA, ADB-PINACA, MDMB-FUBICA und MMB-CHMICA lagen die Matrixeffekte für die hohe Konzentration noch über 50 %, für die niedrige Konzentration zum Teil deutlich unter 50 %. Isotopenmarkierte Standards dieser Substanzen wären geeignet, diesen Effekt auszugleichen.

Die Extraktionsausbeuten lagen für die meisten Substanzen für beide Konzentrationsniveaus oberhalb der geforderten 50 %. 5F-CUMYL-P7AICA wies für die niedrige QC eine Extraktionsausbeute von 46 % auf. Die hohe QC wurde mit 79 % ausreichend aus dem Serum extrahiert. MDMB-CHMCZCA erfüllte die Kriterien nicht. Die ausführlichen Ergebnisse sind in Tabelle 37 im Anhang (8.4) zu finden.

Insgesamt konnte die LC-ESI-MS/MS-Methode für 12 der 15 SCRA vollständig nach den Richtlinien der GTFCh validiert werden. 5F-CUMYL-P7AICA erfüllte die Kriterien für Richtigkeit und Präzision nur für die hohe QC (7,0 ng/mL), obwohl die LLOQ unter 1,0 ng/mL lag. Diese Substanz konnte teil-validiert werden und liefert demzufolge semiquantitative Ergebnisse. MDMB-CHMCZCA wies eine Laborpräzision oberhalb von 20 % (23 % bzw. 28 %) sowie sehr geringe Extraktionsausbeuten auf. Daher konnten MDMB-CHMCZCA und EG-018 nicht validiert werden, wodurch nur qualitative Aussagen für diese Analyte resultieren.

### 4.1.2 Entwicklung und Validierung einer LC-ESI-MS/MS-Methode für Cathinone

#### 4.1.2.1 Methodenentwicklung der LC-ESI-MS/MS-Methode für Cathinone

Für die Cathinone wurde zur Entwicklung einer LC-ESI-MS/MS-Methode in Analogie zu den SCRA vorgegangen. Am Beispiel von Methylon ergaben sich als Quantifier- und Qualifier-Übergänge 208,10>132,10 und 208,10>117,10. Die optimierten MS-Parameter für Methylon und die anderen Analyten sind in Tabelle 19 zusammengefasst und die Quantifier wurden hervorgehoben. In Abbildung 14 ist ein LC-ESI-MS/MS-Chromatogramm der optimierten Methode zum Nachweis von Cathinone dargestellt.

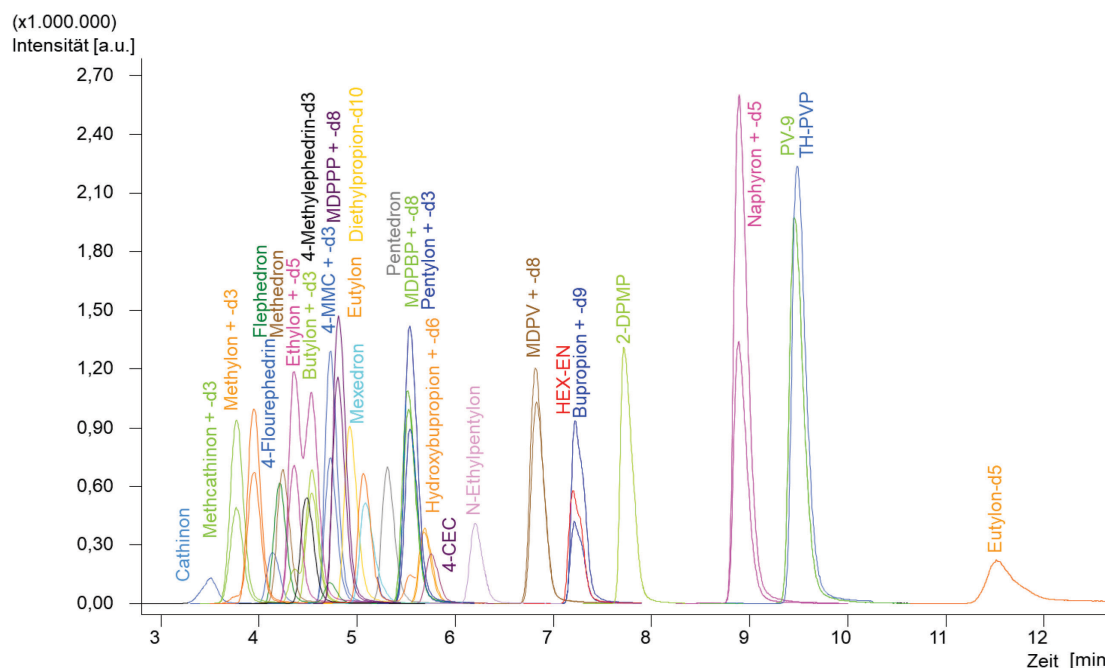


Abb. 14: LC-ESI-MS/MS-Chromatogramm der optimierten Methode zum Nachweis von Cathinonen

Tab. 19: Übersicht der Retentionszeiten, MRM-Übergänge und der optimierten MS/MS-Parameter

Analyt	t <sub>R</sub> [min]	Q1 [m/z]	Q3 [m/z]	Q1 Spannung [V]	CE [V]	Q3 Spannung [V]
2-DPMP	7,7	<b>252,3</b>	<b>91,10</b>	-28	-28	-18
		252,1	115,20	-27	-34	-22
4-CEC	5,7	211,9	<b>144,00</b>	-23	-26	-29
			130,10	-10	-37	-27
4-Fluorephedrin	4,1	<b>184,3</b>	<b>108,90</b>	-12	-32	-20
		183,5	114,90	-17	-26	-12
Bupropion	7,2	<b>240,1</b>	<b>131,00</b>	-27	-27	-26
		239,9	103,00	-26	-35	-20
Butylon	4,5	222,1	<b>131,00</b>	-26	-35	-24
			146,10	-25	-27	-27
Cathinon	3,5	150,1	<b>117,20</b>	-17	-23	-25
			77,10	-16	-33	-30
Ethylon	4,4	<b>222,3</b>	<b>174,10</b>	-14	-19	-19
		222,1	146,00	-26	-25	-28
Eutylon	5,1	<b>235,9</b>	<b>174,00</b>	-25	-32	-19
		236,1	160,00	-25	-26	-30

# Ergebnisse

Analyt	t <sub>R</sub> [min]	Q1 [m/z]	Q3 [m/z]	Q1 Spannung [V]	CE [V]	Q3 Spannung [V]
Flephedron	4,2	182,1	<b>148,10</b>	-20	-31	-29
			103,00	-20	-29	-20
HEX-EN	7,2	219,9	<b>91,10</b>	-23	-25	-18
			130,00	-23	-32	-24
Hydroxy- bupropion	5,7	256,1	<b>130,10</b>	29	-46	-24
			138,90	-29	-25	-25
MDPBP	5,6	262,3	<b>112,20</b>	-28	-26	-22
			148,90	-28	-30	-29
MDPPP	4,8	247,9	<b>98,20</b>	-27	-25	-20
			147,00	-27	-22	-30
MDPV	6,9	<b>276,0</b>	<b>126,10</b>	-13	-26	-25
		276,3	135,00	-28	-25	-25
Mephedron (4-MMC)	4,7	178,1	<b>144,00</b>	-20	-31	-28
			91,00	-19	-36	-17
Methcathinon	3,8	164,1	130,00	-20	-30	-25
			77,10	-19	-43	-30
Methedron	4,2	<b>194,3</b>	<b>146,00</b>	-20	-27	-30
		194,1	118,00	-24	-36	-23
Methylon	4,0	208,3	<b>132,00</b>	-20	-27	-25
			117,00	-13	-33	-23
Mexedron	5,1	<b>208,1</b>	<b>91,10</b>	-23	-36	-18
		207,9	119,00	-24	-21	-23
Naphyron	8,9	282,0	<b>141,00</b>	-18	-26	-28
			127,10	-13	-48	-26
N-Ethylpentylon	6,2	<b>250,1</b>	<b>174,00</b>	-28	-32	-19
		249,9	189,00	-28	-23	-21
Pentedron	5,3	192,1	<b>91,10</b>	-22	-22	-17
			130,00	-22	-32	-28
Pentylon	5,5	236,3	<b>188,00</b>	-15	-18	-21
			131,00	-15	-35	-28

# Ergebnisse

Analyt	t <sub>R</sub> [min]	Q1 [m/z]	Q3 [m/z]	Q1 Spannung [V]	CE [V]	Q3 Spannung [V]
PV-9	9,6	274,0	<b>91,10</b>	-13	-26	-18
			168,20	-13	-26	-18
TH-PVP	9,6	286,0	<b>145,10</b>	-13	-28	-30
			126,20	-13	-31	-24
4-Methyl-ephedrin-d <sub>3</sub>	4,5	183,1	<b>91,00</b>	-20	-28	-18
			115,20	-19	-39	-24
4-MMC-d <sub>3</sub>	4,7	181,4	<b>147,00</b>	-20	-31	-29
			91,20	-19	-26	-20
Bupropion-d <sub>9</sub>	7,2	249,0	<b>130,00</b>	-27	-40	-24
			103,10	-27	-37	-19
Butylon-d <sub>3</sub>	4,5	225,3	<b>134,00</b>	-25	-36	-26
			149,00	-25	-26	-29
Diethylpropion-d <sub>10</sub>	4,9	216,2	<b>105,10</b>	-26	-24	-22
			110,10	-24	-24	-21
Ethylon-d <sub>5</sub>	4,4	227,3	<b>151,10</b>	-24	-26	-29
			119,10	-24	-32	-23
Eutylon-d <sub>5</sub>	12,0	<b>242,0</b>	<b>186,30</b>	-26	-22	-20
		242,2	184,20	-26	-22	-19
Hydroxy-bupropion-d <sub>6</sub>	5,7	262,3	<b>139,00</b>	-29	-27	-27
			131,10	-27	-31	-26
MDPBP-d <sub>8</sub>	5,5	270,0	<b>120,10</b>	-27	-29	-23
			149,00	-28	-30	-28
MDPPP-d <sub>8</sub>	4,8	256,1	<b>147,10</b>	-27	-23	-28
			91,00	-27	-44	-17
MDPV-d <sub>8</sub>	6,9	284,0	<b>134,10</b>	-30	-28	-26
			149,00	-30	-32	-30
Methcathinon-d <sub>3</sub>	3,8	167,3	<b>130,10</b>	-15	-27	-14
			77,10	-24	-39	-30
Methylon-d <sub>3</sub>	3,9	211,0	<b>135,10</b>	-22	-27	-28
			91,20	-23	-35	-18

Analyt	t <sub>R</sub> [min]	Q1 [m/z]	Q3 [m/z]	Q1 Spannung [V]	CE [V]	Q3 Spannung [V]
Naphyron-d <sub>5</sub>	8,9	287,4	<b>141,10</b>	-18	-26	-29
			131,10	-18	-29	-25
Pentylon-d <sub>3</sub>	5,5	239,3	<b>191,00</b>	-25	-18	-21
			134,10	-26	-36	-26

### Cathinon - Aufarbeitung

Beim Vergleich aller Varianten zeigte sich, dass 4-Fluorephedrin die Substanz mit der schwächsten Signalintensität ist, weshalb die Extraktionsmethode (100 µL Serum + 100 µL Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> + 200 µL BuCl) mit der höchsten Signalfäche für 4-Fluorephedrin gewählt wurde. Auch die anderen Cathinone wurden mit dieser Variante und 2 µL Injektionsvolumen am besten (Signalfäche) aus dem Serum extrahiert.

#### **4.1.2.2 Methodvalidierung der LC-ESI-MS/MS-Methode für Cathinone**

Die Validierung der LC-ESI-MS/MS-Methode für 25 Cathinone erfolgte entsprechend den Richtlinien der GTFCh [50].

### Selektivität, Spezifität, Linearität, Genauigkeit und Stabilität

Bei dem erarbeiteten Verfahren sind in den Leer- und Nullproben keine Interferenzen aufgetreten, sodass für die Methode die Selektivität gegeben ist. Die Spezifität der Methode ist mit den SCRA und den BZD/Z-Drugs der validierten LC-ESI-MS/MS Methoden getestet worden und ergab keine Störfaktoren oder Interferenzen.

Die Linearität ist für die Substanzen der Cathinon-Gruppe im Kalibrationsbereich von 10 - 500 ng/mL mittels der Validierung nachgewiesen worden. Die ermittelten Kalibrierfunktionen und Bestimmtheitsmaße für Methylon (Abb. 15) und für die weiteren Cathinone sind im Anhang (Tab. 38, 8.4) abgebildet. Aufgrund des großen Kalibrierungsbereiches, damit möglichst viele authentische Proben abgedeckt werden, wurden die Kalibratoren mit dem Faktor 1/x gewichtet, um Homoskedastizität zu erreichen.

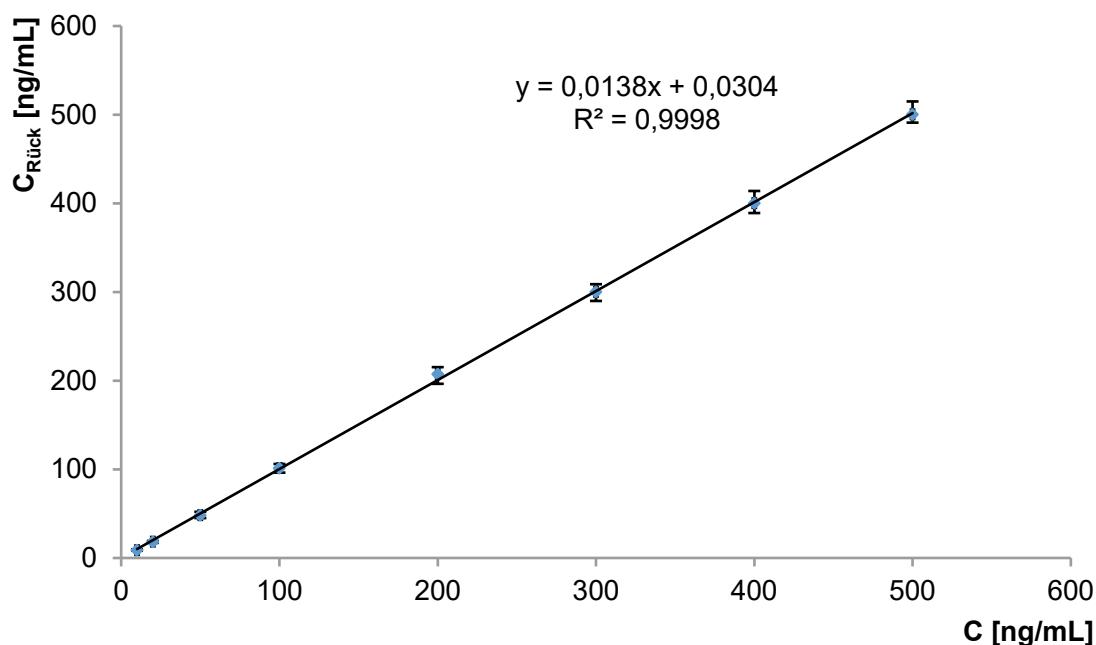


Abb. 15: Kalibrierfunktion und Bestimmtheitsmaß von Methylon im Serum (n=6)

Aufgrund der teilweise höheren LOD bzw. LLOQ im Vergleich zum kleinsten Kalibrator (10 ng/mL) mussten die Arbeitsbereiche der Substanzen angepasst werden (Tab. 20). Für sechs Substanzen (2-DPMP, MDPBP, MDPPP, MDPV, Methylon, Pentedron) konnte der Kalibrierbereich von 10 – 500 ng/mL beibehalten werden. Für 17 weitere Cathinone zeigte die niedrige QC (15 ng/mL) den Richtlinien entsprechende Ergebnisse für Genauigkeit und Präzision. Die mittels Valistat bestimmten LLOQ lagen bei diesen Substanzen bei oder unterhalb von 20 ng/mL, weshalb der Kalibrierbereich auf 20 - 500 ng/mL festgelegt wurde. Während für Cathinon der Arbeitsbereich von 50 – 500 ng/mL betrug, erfolgte für PV-9 und Flephedron eine Anpassung auf 100 - 500 ng/mL.

Die Genauigkeit ist für die meisten Substanzen der Cathinon-Gruppe anhand der QC-Proben (15; 45 und 450 ng/mL) in den erforderlichen Grenzen für Richtigkeit und Präzision bewiesen worden. Für Flephedron erfüllten die mittlere und die hohe QC diese Kriterien, sodass auch hier gemäß den Richtlinien validiert wurde. Die Substanz PV-9 erfüllte die Kriterien nur für die QC 450 ng/mL. Für die niedrige und die mittlere QC konnten die Kriterien für Wiederholbarkeit und Laborpräzision, jedoch nicht für die Richtigkeit eingehalten werden. Somit kann für diese Substanz nur ein semiquantitatives Ergebnis erzielt werden. Die ausführlichen Ergebnisse für Richtigkeit und Präzision sind in Tabelle 38 im Anhang (8.4) zu finden.

Die Kriterien zur Stabilität (Abweichung <25 % zwischen den Prüftagen) wurden für alle Analyten im niedrigen und hohen Konzentrationsbereich während der Bearbeitungszeiten erfüllt.

### Analytische Kenngrößen

Die Grenzen der LOD und der LLOQ für die Cathinone sind mithilfe der Valistat Software errechnet worden und in Tabelle 20 zusammengefasst. Die LLOQ von 23 der 25 Cathinone lag unterhalb des niedrigsten Kalibrators.

**Tab. 20: Kalibrierbereiche, LOD und LLOQ der Cathinone mit LC-ESI-MS/MS-Methode für Serumproben**

Analyt	Kalibrierbereich [ng/mL]	LOD [ng/mL]	LLOQ [ng/mL]
2-DPMP	10 – 200 (500)*	1,04	3,96
4-CEC	20 – 500	5,35	18,2
4-Fluorephedrin	20 – 400 (500)*	5,97	20,4
Bupropion	20 – 500	3,20	11,0
Butylon	20 – 500	4,11	14,1
Cathinon	50 – 400 (500)*	9,50	31,5
Ethylon	20 – 500	4,59	15,7
Eutylon	20 – 500	5,05	17,2
Flephedron	100 – 500	18,9	59,7
HEX-EN	20 – 200 (500)*	4,82	17,2
Hydroxybupropion	20 – 500	5,01	17,1
MDPBP	10 – 500	2,59	9,03
MDPPP	10 – 500	2,13	7,42
MDPV	10 – 500	2,69	9,37
Mephedron (4-MMC)	20 – 500	5,09	17,4
Methcathinon	20 – 500	3,21	11,1
Methedron	20 – 500	4,37	15,0
Methylon	10 – 500	3,02	10,4
Mexedron	20 – 400 (500)*	5,31	18,3
Naphyron	20 – 200 (500)*	3,07	11,2
N-Ethylpentylon	20 – 500	5,20	17,7
Pentedron	10 – 500	2,31	8,04
Pentylon	20 – 500	4,59	15,7
PV-9	100 – 500	19,6	61,7
TH-PVP	20 – 500	6,21	21,0



\*Aufgrund der Signal-Rausch-Verhältnisse des kleinsten Kalibrators von >3 (LOD) bzw. von >10 (LLOQ) wurde der Kalibrierbereich des Analyten zur Berechnung von LOD und LLOQ eingeschränkt (Bereich ohne Klammer)

Für 4-Fluorephedrin und TH-PVP lagen die LLOQs sehr geringfügig oberhalb des kleinsten Kalibrators, aber aufgrund der guten Signal-Rauschverhältnisse von deutlich größer >10 wurde der jeweilige Arbeitsbereich beibehalten.

Für die Wiederfindungen der niedrigen und hohen Konzentrationen (15 ng/mL, 450 ng/mL) resultierten mit Ausnahme von 4-Fluorephedrin Werte oberhalb von 50%. Die Matrixeffekte lagen für alle Analyten bei beiden Konzentrationsniveaus innerhalb der Grenze von 75 - 125 %. Die Extraktionsausbeuten der 24 Substanzen überschritten für beide Konzentrationsniveaus die geforderten 50 %. 4-Fluorephedrin wies für die hohe QC eine Extraktionsausbeute von 44 % und für die niedrige QC lediglich 30 % auf. Die ausführlichen Ergebnisse sind in Tabelle 39 im Anhang unter 8.4 zu finden.

Insgesamt konnte die LC-ESI-MS/MS-Methode für 23 der 25 Cathinone vollständig nach den Richtlinien der GTFCh validiert werden. Für 4-Fluorephedrin und PV-9 ergab sich jeweils eine Teil-Validierung, da nicht alle geforderten Kriterien erfüllt werden konnten.

### 4.1.3 Entwicklung und Validierung einer LC-ESI-MS/MS-Methode für BZD/Z-Drugs

#### 4.1.3.1 Methodenentwicklung der LC-ESI-MS/MS-Methode für BZD/Z-Drugs

Für die BZD/Z-Drugs wurde zur Entwicklung einer LC-ESI-MS/MS-Methode in Analogie zu den SCRA vorgegangen. Am Beispiel von Clonazepam ergaben sich als Quantifier- und Qualifier-Übergänge 316,10>270,10 und 316,10>214,10. Die optimierten MS/MS-Parameter für Clonazepam und die anderen Analyten sind in Tabelle 21 zusammengefasst und die Quantifier wurden hervorgehoben.

Tab. 21: Übersicht der Retentionszeiten, MRM-Übergänge und optimierten MS/MS-Parameter

Analyt	t <sub>R</sub> [min]	Q1 [m/z]	Q3 [m/z]	Q1 Spannung [V]	CE [V]	Q3 Spannung [V]
3-Hydroxy-flunitrazepam	11,8	330,00	238,00	-16	-33	-27
			<b>284,00</b>	-16	-20	-21
3-Hydroxy-phenazepam	14,2	364,90	273,10	-18	-31	-20
			<b>319,00</b>	-18	-25	-23
7-Amino-flunitrazepam	5,1	283,80	<b>135,10</b>	-29	-27	-28
			226,10	-30	-31	-25

# Ergebnisse

Analyt	t <sub>R</sub> [min]	Q1 [m/z]	Q3 [m/z]	Q1 Spannung [V]	CE [V]	Q3 Spannung [V]
Adinazolam	8,9	351,50	267,10	-17	-36	-19
			<b>295,10</b>	-16	-22	-22
Alprazolam	15,9	309,00	205,10	-15	-41	-22
			<b>281,20</b>	-15	-26	-21
Bromazepam	9,0	315,90	<b>182,00</b>	-15	-32	-19
			208,00	-15	-39	-23
Clobazam	14,1	301,00	224,10	-14	-32	-25
			<b>259,10</b>	-14	-20	-19
Clonazepam	14,5	316,00	<b>270,00</b>	-15	-26	-20
			214,10	-15	-38	-24
Clonazolam	12,4	354,00	280,10	-17	-36	-20
			<b>308,10</b>	-17	-27	-22
Cloniprazepam	22,6	370,00	270,10	-18	-34	-30
			<b>316,10</b>	-18	-23	-23
Delorazepam	17,6	304,90	<b>140,10</b>	-15	-29	-28
		304,70	206,10	-30	-35	-23
Desalkyl- flurazepam	16,1	289,00	<b>140,10</b>	-30	-28	-30
			226,10	-30	-28	-25
Diazepam	20,6	285,00	154,00	-30	-27	-17
			<b>193,10</b>	-30	-32	-21
Etizolam	16,1	343,00	259,10	-17	-35	-29
			<b>314,10</b>	-16	-26	-23
Flubromazolam	14,7	370,80	<b>223,00</b>	-18	-44	-25
			343,00	-18	-30	-25
Flunitrazepam	16,2	314,00	239,20	-15	-34	-26
			<b>268,20</b>	-15	-26	-19
Flunitrazolam	11,4	338,00	264,00	-16	-35	-19
			<b>292,00</b>	-17	-27	-21
Ketazolam	21,4	369,00	154,10	-18	-37	-11
			<b>193,10</b>	-18	-42	-21

# Ergebnisse

Analyt	t <sub>R</sub> [min]	Q1 [m/z]	Q3 [m/z]	Q1 Spannung [V]	CE [V]	Q3 Spannung [V]
Lorazepam	13,5	320,90	<b>229,00</b>	-16	-30	-26
			274,90	-16	-23	-20
Lormetazepam	17,0	334,80	177,00	-16	-40	-19
		<b>334,90</b>	<b>289,10</b>	-16	-22	-21
Meclonazepam	18,7	330,00	214,00	-16	-37	-23
			<b>284,10</b>	-16	-26	-21
Metizolam	12,6	329,00	138,10	-16	-31	-10
			<b>275,10</b>	-16	-26	-20
Midazolam	11,1	326,00	249,10	-23	-38	-28
			<b>291,20</b>	-23	-27	-21
N-Desmethyl- flunitrazepam	12,9	300,00	198,10	-15	-38	-21
			<b>254,10</b>	-14	-25	-29
N-Desmethyl- zopiclon	4,9	375,00	217,10	-18	-33	-15
			<b>245,10</b>	-18	-20	-27
Nifoxipam	9,5	316,00	194,10	-15	-35	-21
			<b>224,20</b>	-15	-32	-24
Nimetazepam	17,2	296,00	221,10	-30	-34	-24
			<b>250,10</b>	-14	-26	-18
Nitrazepam	14,8	282,00	180,00	-30	-37	-20
			<b>236,20</b>	-30	-24	-26
Nitrazolam	11,5	320,00	246,20	-16	-35	-18
			<b>274,10</b>	-16	-26	-20
Norclobazam	11,0	287,00	210,20	-14	-31	-23
			<b>245,00</b>	-30	-20	-27
Nordazepam	18,7	271,00	<b>140,00</b>	-30	-28	-29
			165,00	-29	-28	-18
Oxazepam	14,2	287,00	163,00	-30	-37	-18
			<b>241,00</b>	-30	-23	-27
Pivoxazepam	23,8	371,00	162,90	-18	-51	-17
			<b>241,10</b>	-18	-30	-27

# Ergebnisse

Analyt	t <sub>R</sub> [min]	Q1 [m/z]	Q3 [m/z]	Q1 Spannung [V]	CE [V]	Q3 Spannung [V]
Pyrazolam	7,2	355,90	<b>167,00</b>	-17	-34	-18
			206,20	-17	-31	-22
Temazepam	17,0	301,00	177,00	-15	-39	-19
			<b>255,10</b>	-15	-22	-29
Zolpidem	6,0	308,10	<b>235,20</b>	-15	-35	-26
			236,20	-15	-28	-17
Zopiclon	5,0	388,80	217,10	-19	-33	-24
			<b>245,10</b>	-19	-18	-27
α-Hydroxy- alprazolam	12,7	325,00	216,10	-16	-40	-24
			<b>297,10</b>	-16	-25	-22
α-Hydroxy- midazolam	13,2	342,00	203,10	-17	-27	-22
			<b>324,10</b>	-17	-23	-22
3-Hydroxy- phenazepam-d <sub>4</sub>	14,1	368,90	277,10	-18	-31	-29
			<b>322,90</b>	-18	-24	-24
7-Amino- flunitrazepam-d <sub>7</sub>	5,0	291,10	<b>138,20</b>	-14	-29	-28
			230,20	-29	-32	-27
Alprazolam-d <sub>5</sub>	15,8	313,80	210,20	-15	-42	-23
		314,00	<b>286,20</b>	-22	-27	-21
Bromazepam-d <sub>7</sub>	8,9	321,70	<b>186,20</b>	-15	-32	-20
			213,10	-15	-27	-23
Clobazam- <sup>13</sup> C <sub>6</sub>	14,1	307,00	230,20	-15	-33	-25
			<b>265,20</b>	-15	-20	-19
Clonazepam-d <sub>4</sub>	14,3	320,00	<b>274,20</b>	-15	-25	-20
			218,10	-16	-37	-25
Delorazepam-d <sub>4</sub>	17,5	308,80	<b>140,10</b>	-15	-30	-29
		308,70	210,20	-15	-38	-24
Diazepam-d <sub>5</sub>	20,6	289,80	<b>198,20</b>	-30	-32	-22
			154,00	-30	-28	-17
Etizolam-d <sub>3</sub>	16,1	346,00	138,10	-24	-34	-29
			<b>317,10</b>	-17	-26	-23

# Ergebnisse

Analyt	t <sub>R</sub> [min]	Q1 [m/z]	Q3 [m/z]	Q1 Spannung [V]	CE [V]	Q3 Spannung [V]
Flunitrazepam-d <sub>7</sub>	16,0	320,80	246,20	-15	-36	-27
			<b>275,20</b>	-15	-27	-20
Lorazepam-d <sub>4</sub>	13,4	324,90	<b>233,10</b>	-16	-32	-26
			279,10	-16	-24	-20
Midazolam-d <sub>4</sub>	11,0	330,00	227,00	-16	-39	-16
			<b>295,20</b>	-16	-28	-21
N-Desmethyl- flunitrazepam-d <sub>4</sub>	12,8	304,00	202,20	-15	-39	-22
			<b>258,20</b>	-15	-25	-29
N-Desmethyl- zopiclon-d <sub>4</sub>	4,9	379,00	217,10	-19	-33	-24
		378,90	<b>245,00</b>	-18	-21	-27
Nitrazepam-d <sub>5</sub>	14,7	287,10	185,10	-14	-37	-21
			<b>241,20</b>	-14	-25	-27
Norclobazam- <sup>13</sup> C <sub>6</sub>	11,0	293,00	187,10	-14	-48	-20
			<b>251,10</b>	-30	-20	-28
Nordazepam-d <sub>5</sub>	18,5	276,00	<b>140,00</b>	-30	-28	-29
			165,10	-30	-27	-18
Oxazepam-d <sub>5</sub>	14,0	292,00	163,10	-30	-37	-18
			<b>246,10</b>	-30	-24	-27
Temazepam-d <sub>5</sub>	16,8	306,00	177,00	-15	-40	-19
			<b>260,10</b>	-15	-24	-19
Zolpidem-d <sub>7</sub>	6,0	315,10	<b>242,20</b>	-16	-36	-27
			243,20	-15	-29	-27
Zopiclon-d <sub>4</sub>	5,0	392,90	217,10	-19	-34	-16
			<b>245,10</b>	-19	-18	-28
α-Hydroxy- alprazolam-d <sub>5</sub>	12,6	330,00	221,10	-23	-40	-24
			<b>302,10</b>	-23	-27	-22
α-Hydroxy- midazolam-d <sub>4</sub>	13,1	346,00	203,00	-17	-22	-27
			<b>328,10</b>	-17	-22	-23

In Abbildung 16 ist ein LC-ESI-MS/MS-Chromatogramm der optimierten Methode zum Nachweis von BZD/Z-Drugs dargestellt.

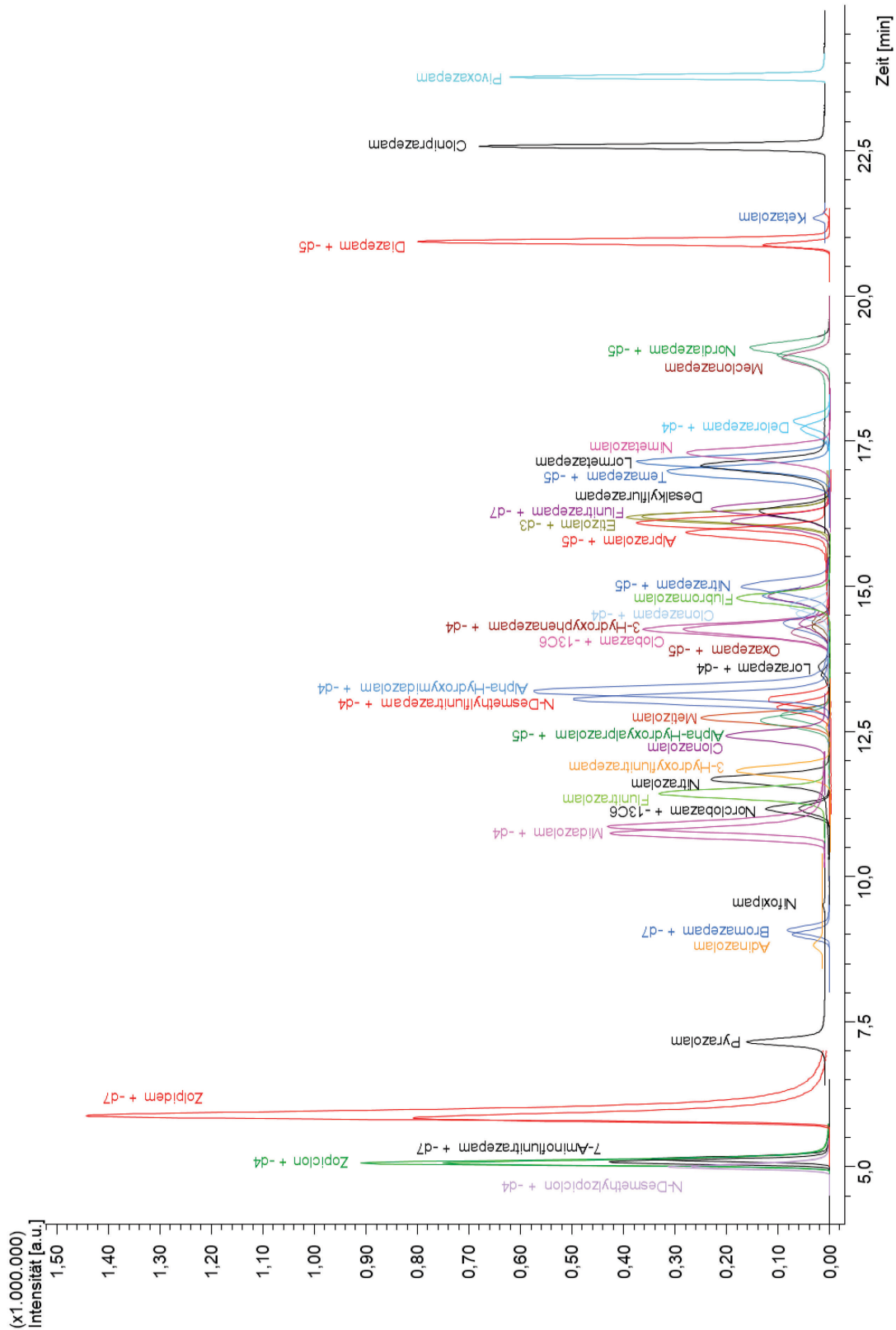


Abb. 16: LC-ESI-MS/MS-Chromatogramm der optimierten Methode zum Nachweis von BZD/Z-Drugs

BZD/Z-Drugs - Aufarbeitung

Auch für die Aufarbeitung der BZD/Z-Drugs wurden verschiedene Extraktionsmittel untersucht. Die Abbildung 17 (entnommen aus der Diplomarbeit von Felicia Möller [49]) zeigt die untersuchten Extraktionsmittel und ihre Extraktionsstärke anhand der Signalfächen aller Analyten zusammengefasst. Die Signalfäche bei Extraktion mit BuCl war insgesamt am höchsten und wurde daher als 100 % definiert.

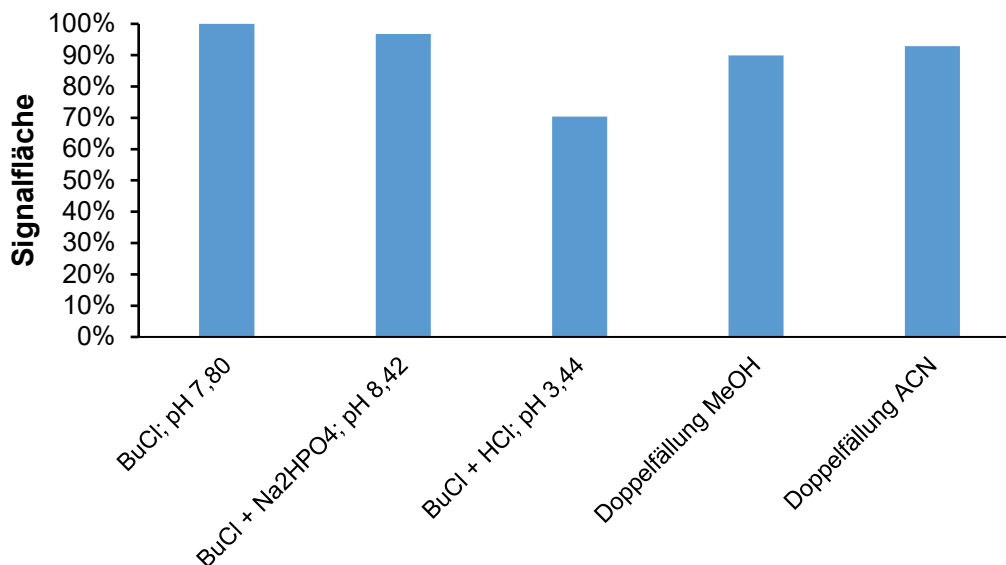


Abb. 17: Vergleich verschiedener Extraktionsmethoden anhand der Signalfäche (entnommen aus der Diplomarbeit von Felicia Möller [49])

Die Extraktionsmethode ohne sauren oder basischen Zusatz erzielte hier die höchsten Ausbeuten und wurde zur Aufarbeitung angewandt. Die Volumina an Matrix und Extraktionsmittel sind aufgrund der Extraktionsausbeuten und der Handhabung der Proben auf das Verhältnis 1:4 mit 100 µL Probe und 400 µL BuCl festgelegt worden.

#### 4.1.3.2 Methodvalidierung der LC-ESI-MS/MS-Methode für BZD/Z-Drugs

Die Validierung der BZD/Z-Drugs-Methode erfolgte nach den Richtlinien der GTFCh [50]. Im Anhang unter Kapitel 8.4 sind der Vollständigkeit halber die entnommenen Tabellen der Validierungsergebnisse (Linearität, Matrixeffekte, Wiederfindungsrate und Extraktionsausbeute) aus der Diplomarbeit von Felicia Möller aufgeführt [49].

#### Selektivität, Spezifität, Linearität, Genauigkeit und Stabilität

Bei dem aufgebauten Verfahren sind in den Leer- und Nullproben keine Interferenzen aufgetreten, sodass für die Methode die Selektivität gegeben ist. Die Spezifität der Methode

ist mit den SCRA und den Cathinonen der validierten LC-ESI-MS/MS Methoden getestet worden und ergab keine Störfaktoren oder Interferenzen.

Die Linearität ist für 28 Substanzen der BZD/Z-Drugs im Kalibrationsbereich von 1,0-200 ng/mL mittels der Validierung nachgewiesen worden. Die ermittelten Kalibrierfunktionen und Bestimmtheitsmaße für Clonazepam (Abb. 18) und für die weiteren BZD/Z-Drugs sind im Anhang (Tab. 40, 8.4) abgebildet. Für vier Analyten (3-Hydroxyphenazepam, Adinazolam,  $\alpha$ -Hydroxyalprazolam, Bromazepam) sind die Kalibrationsbereiche von 2,0 – 200 ng/mL, für weitere vier Analyte (Ketazolam, Lorazepam, N-Desmethylzopiclon und Oxazepam) von 5,0 – 200 ng/mL festgelegt worden. Für Etizolam wurde eine polynomische Funktion genutzt, da die Substanz bei höheren Konzentrationen einen Sättigungseffekt aufzeigte. Nifoxipam war bei Konzentrationen von < 50 ng/mL nur mit großen Schwankungsbreiten (Signal-Rausch-Verhältnisse von  $\geq 3/1$ ) detektierbar, sodass für diesen Analyten keine Kalibrierfunktion erstellt werden konnte. Aufgrund der zahlreichen isotoopenmarkierten ISTDs kann im Einzelfall bzw. für den einzelnen Analyten eine schnelle Quantifizierung unter Verwendung der Responsefaktoren (siehe Anhang) und ohne Bezug auf die ermittelten Kalibrierfunktionen erfolgen.

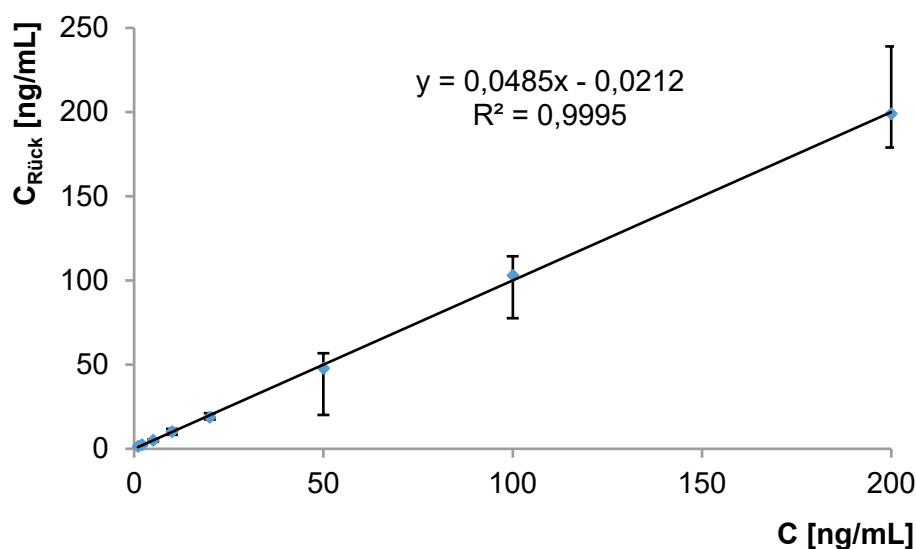


Abb. 18: Kalibrierfunktion und Bestimmtheitsmaß von Clonazepam im Serum (n=6)

Für neun Substanzen (3-Hydroxyphenazepam, Alprazolam, Clonazepam, Delorazepam, Etizolam, Flubromazolam, Metizolam, Oxazepam und Zopiclon) konnten die Kriterien für Richtigkeit und Präzision für alle drei Konzentrationsniveaus der QC bestätigt werden. Die Genauigkeit ist für weitere 29 Substanzen anhand von zwei QC-Proben in den erforderlichen Grenzen für Richtigkeit und Präzision bewiesen worden, sodass auch hier gemäß den Richtlinien validiert wurde. Für vier dieser 30 Substanzen (Clonazolam, Meclonazepam, Nimetazepam, Nitrazolam) muss hierbei tagesaktuell kalibriert werden. Für Cloniprazepam



und Lormetazepam wurden zur Berechnung der Richtigkeit und Präzision die Kalibrierbereiche den Konzentrationen der QC-Proben angepasst. Für die niedrige QC (2 ng/mL) betrug der Bereich 1 – 20 ng/mL, während der Bereich der hohen QC (200 ng/mL) 10 – 200 ng/mL war. Für Ketazolam erfüllten ebenfalls zwei QC-Proben die Kriterien mit Ausnahme der Laborpräzision, die knapp oberhalb der 20 %-Grenze lag (21 % bzw. 26 %). Bei Meclonazepam war die Laborpräzision für eine QC etwas oberhalb der Grenze (21 %). Nifoxipam wurde aufgrund des stark eingrenzten Kalibrierbereiches ( $\geq 50$  ng/mL) nicht weiter berücksichtigt. Die ausführlichen Ergebnisse für Richtigkeit und Präzision sind in der Tabelle 40 im Anhang unter Kapitel 8.4 zu finden.

Die Kriterien zur Stabilität (Abweichung  $<25$  % zwischen den Prüftagen) wurden für alle Analyten im niedrigen und hohen Konzentrationsbereich während der Bearbeitungszeiten erfüllt.

### Analytische Kenngrößen

Die LOD und der LLOQ für die BZD/Z-Drugs sind mithilfe der Valistat Software errechnet worden und in Tabelle 22 zusammengefasst. Für einige BZD/Z-Drugs lagen die LODs und/oder LLOQs geringfügig oberhalb des kleinsten Kalibrators, aber aufgrund der guten Signal-Rauschverhältnisse von deutlich größer  $>10$  wurde der jeweilige Arbeitsbereich beibehalten.

**Tab. 22: Kalibrierbereiche, LOD und LLOQ der validierten BZD/Z-Drugs mittels LC-ESI-MS/MS-Methode im Serum**

Substanz	Kalibrierbereich	LOD [ng/mL]	LLOQ [ng/mL]
3-Hydroxyflunitrazepam	1 – 50* (200)	0,689	2,198
3-Hydroxyphenazepam	2 – 200	2,806	9,650
7-Aminoflunitrazepam	1 – 50* (200)	0,897	3,130
Adinazolam	2 – 50* (200)	2,298	8,736
Alprazolam	1 – 20* (200)	0,894	3,011
Bromazepam	2 – 50* (200)	1,747	6,062
Clobazam	1 – 20* (200)	0,976	3,258
Clonazepam	1 – 50* (200)	0,995	3,454
Clonazolam	2 – 50* (200)	3,510	12,932
Cloniprazepam	1 – 20* (200)	1,623	5,111
Delorazepam	1 – 50* (200)	1,060	3,871
Desalkylflurazepam	1 – 50* (200)	1,921	6,794

## Ergebnisse

Substanz	Kalibrierbereich	LOD [ng/mL]	LLOQ [ng/mL]
Diazepam	1 – 50* (200)	0,682	2,409
Etizolam	1 – 20* (200)	0,671	2,324
Flubromazolam	1 – 20* (200)	0,605	2,116
Flunitrazepam	1 – 50* (200)	0,539	1,922
Flunitrazolam	1 – 50* (200)	1,603	5,730
Ketazolam	5 – 100* (200)	2,162	8,654
Lorazepam	5 – 100* (200)	2,101	7,561
Lormetazepam	1 – 20* (200)	1,292	4,175
Meclonazepam	1 – 50* (200)	0,476	1,788
Metizolam	1 – 20* (200)	0,741	2,545
Midazolam	1 – 50* (200)	0,502	1,883
N-Desmethyl-flunitrazepam	1 – 20* (200)	0,161	0,602
N-Desmethylzopiclon	5 – 200	2,316	8,626
Nifoxipam	50 – 200	nicht bestimmbar	nicht bestimmbar
Nimetazepam	1 – 50* (200)	0,363	1,372
Nitrazepam	1 – 20* (200)	0,653	2,267
Nitrazolam	1 – 50* (200)	1,526	5,471
Norclobazam	1 – 50* (200)	0,818	3,020
Nordazepam	1 – 50* (200)	0,897	3,664
Oxazepam	5 – 200	2,870	10,632
Pivoxazepam	1 – 20* (200)	2,015	6,210
Pyrazolam	1 – 20* (200)	0,982	3,274
Temazepam	1 – 100* (200)	0,710	2,693
Zolpidem	1 – 100* (200)	0,470	1,794
Zopiclon	1 – 100* (200)	0,508	1,934
$\alpha$ -Hydroxyalprazolam	2 – 20* (200)	2,669	8,283
$\alpha$ -Hydroxymidazolam	1 – 50* (200)	0,410	1,546

\*Aufgrund der Signal-Rausch-Verhältnisse des kleinsten Kalibrators von >3 (LOD) bzw. von >10 (LLOQ) wurde der Kalibrierbereich des Analyten zur Berechnung von LOD und LLOQ eingeschränkt (Bereich ohne Klammer)

Die Wiederfindung lag bei Bestimmung der niedrigen und der hohen Konzentration (5 ng/mL, 200 ng/mL) mit Ausnahme einer Substanz über der Grenze von 50%. Nifoxipam zeigte nur bei der hohen Konzentration eine Wiederfindung von über 50 %.

Die Matrixeffekte lagen für 36 Analyten für beide Konzentrationsniveaus innerhalb der Grenze von 75 – 125 %. 3-Hydroxyphenazepam konnte die Kriterien für den Matrixeffekt nur für die niedrige Konzentration, Meclonazepam und Nimetazepam nur für die hohe Konzentration einhalten.

Die Extraktionsausbeuten lagen für 38 Substanzen für beide Konzentrationsniveaus oberhalb der geforderten 50 %. Nifoxipam zeigte nur bei der hohen Konzentration eine Wiederfindung von über 50 %.

Die ausführlichen Ergebnisse sind in der Tabelle 41 im Anhang unter Kapitel 8.4 zu finden.

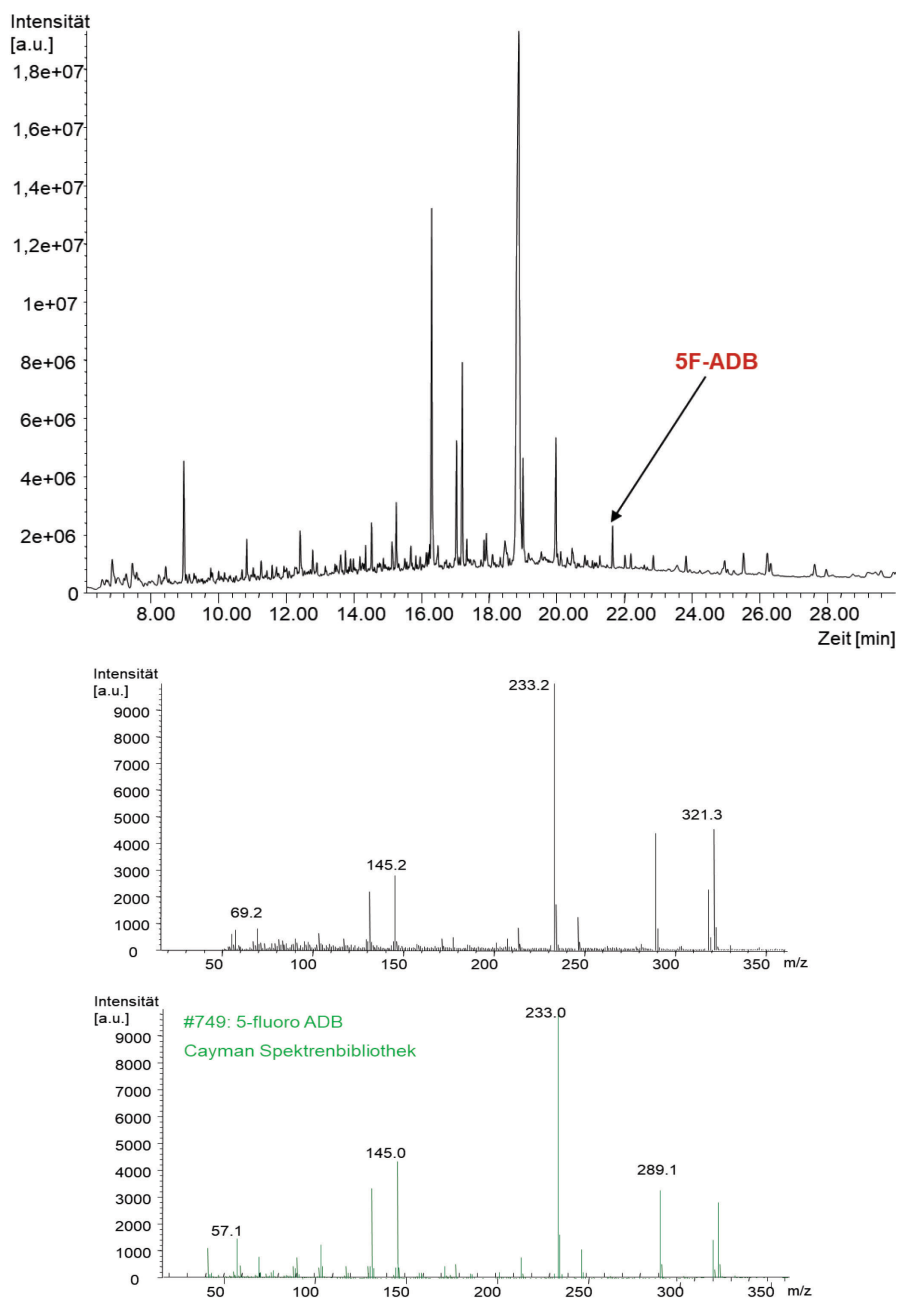
Insgesamt konnte die LC-ESI-MS/MS-Methode für 38 BZD/Z-Drugs vollständig nach den Richtlinien der GTFCh validiert werden. Für 3-Hydroxyphenazepam, Meclonazepam und Nimetazepam ergaben sich zum Teil Abweichungen bezüglich des Matrixeffektes, was unter Umständen für spezielle toxikologische Analysen zu berücksichtigen wäre. Nifoxipam konnte nicht nach den Richtlinien validiert werden.

## 4.2 Realfälle

### 4.2.1 Analytik von SCRA in humanen Probenmaterial bei letal verlaufenden Intoxikationen

Im Rostocker Institut wurden zunächst die Kräutermischungen und Bonginhalte auf ihre Inhaltsstoffe untersucht. In den ersten drei Fällen wurden entweder in den sichergestellten Kräutermischungen oder in den Bonginhalten mittels GC-MS 5F-ADB als Inhaltsstoff nachgewiesen. Die forensisch-toxikologischen Analysen der humanen Asservate sind zunächst mithilfe der Arbeitsgruppe des Institutes für Rechtsmedizin Freiburg durchgeführt worden. In Abbildung 19 ist ein GC-MS-Chromatogramm des Bonginhaltes von einem Todesfall sowie das dazugehörige Massenspektrum vom zu identifizierenden Signal (5F-ADB) und dem Bibliotheksvergleich dargestellt. [44;56]

## Ergebnisse



**Abb. 19: GC-MS-Chromatogramm des Bonginhaltes mit Massenspektrum des identifiziertem 5F-ADB und dessen Vergleichsmassenspektrums der Cayman Bibliothek [52]**

Mithilfe dieser Information konnte im nächsten Schritt eine LC-ESI-MS/MS-Methode zum Nachweis von 5F-ADB für die Untersuchungen der asservierten Körperflüssigkeiten und Organhomogenate entwickelt werden. Dies wurde nötig, da die Fallanalyse zeitlich vor dem Fertigstellen der Multikomponentenmethode der SCRA lag.

Der Precursor- und Produktionen-Scan des Referenzstandards ergab die Übergänge 378,10 > 233,20; 378,10 > 213,10 und 378,10 > 145,00 für 5F-ADB. In Abbildung 20 sind diese Übergänge für die Matrix Lungenablaufflüssigkeit aus Fall 3 dargestellt.

## Ergebnisse

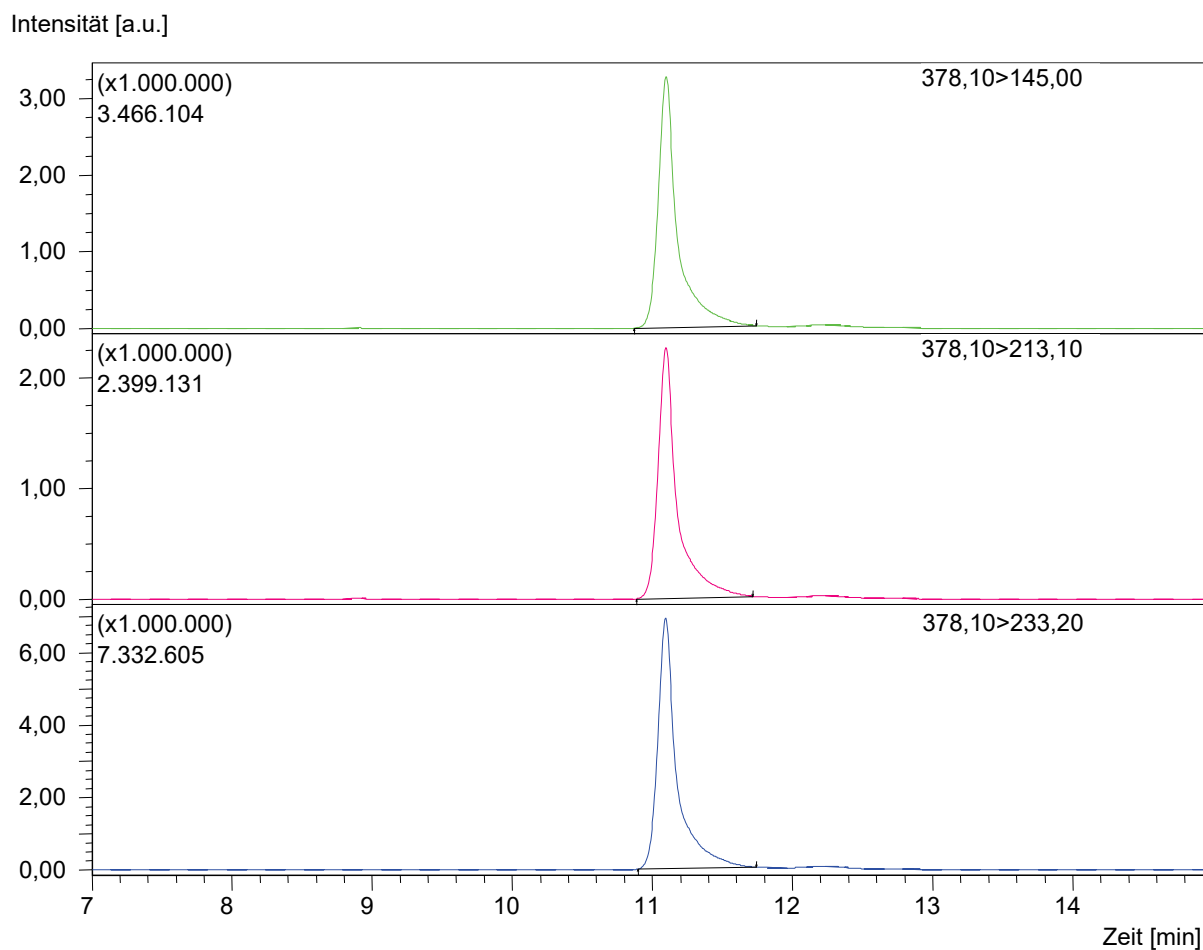


Abb. 20: Spezifische Massenübergänge von 5F-ADB in der LC-ESI-MS/MS-Methode unter Verwendung der ShimPack FC-ODS-Säule

Der Massenübergang 378,10 > 233,20 (blau dargestellt) wurde aufgrund seiner Intensität zur Quantifizierung herangezogen. Es wurde eine externe Kalibrierung (0,1 – 10 ng/mL) in Vollblut (Abb. 21) zur Quantifizierung der 5F-ADB-Konzentrationen in den einzelnen humanen Asservatmaterialien durchgeführt.

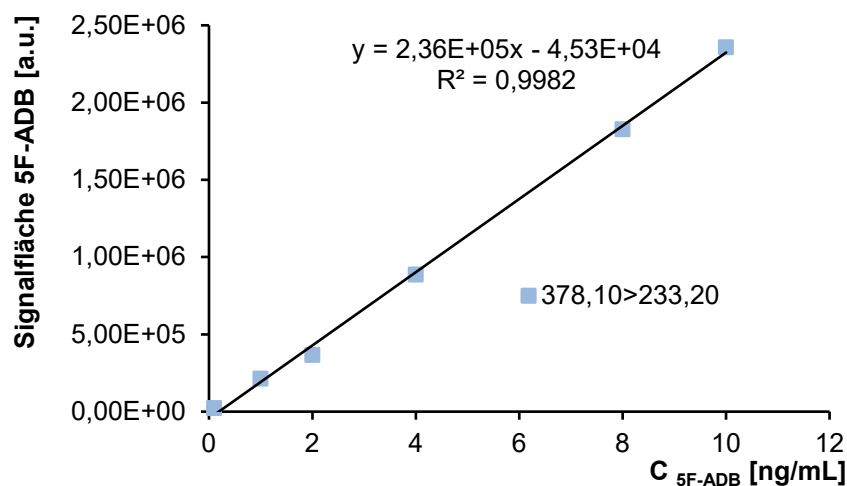


Abb. 21: Kalibrierung mit Analysenfunktion und Bestimmtheitsmaß für 5F-ADB aus Vollblut

Diese Methode ergab für die Todesfälle die in Tabelle 23 gezeigten Konzentrationen im Herzblut (HB). Die Konzentrationen im Oberschenkelvenenblut (OSV) wurden mithilfe der Kollegen aus Freiburg ermittelt.

**Tab. 23: 5F-ADB-Konzentrationen im Herzblut (HB) und Oberschenkelvenenblut (OSV) von den 4 Todesfällen**

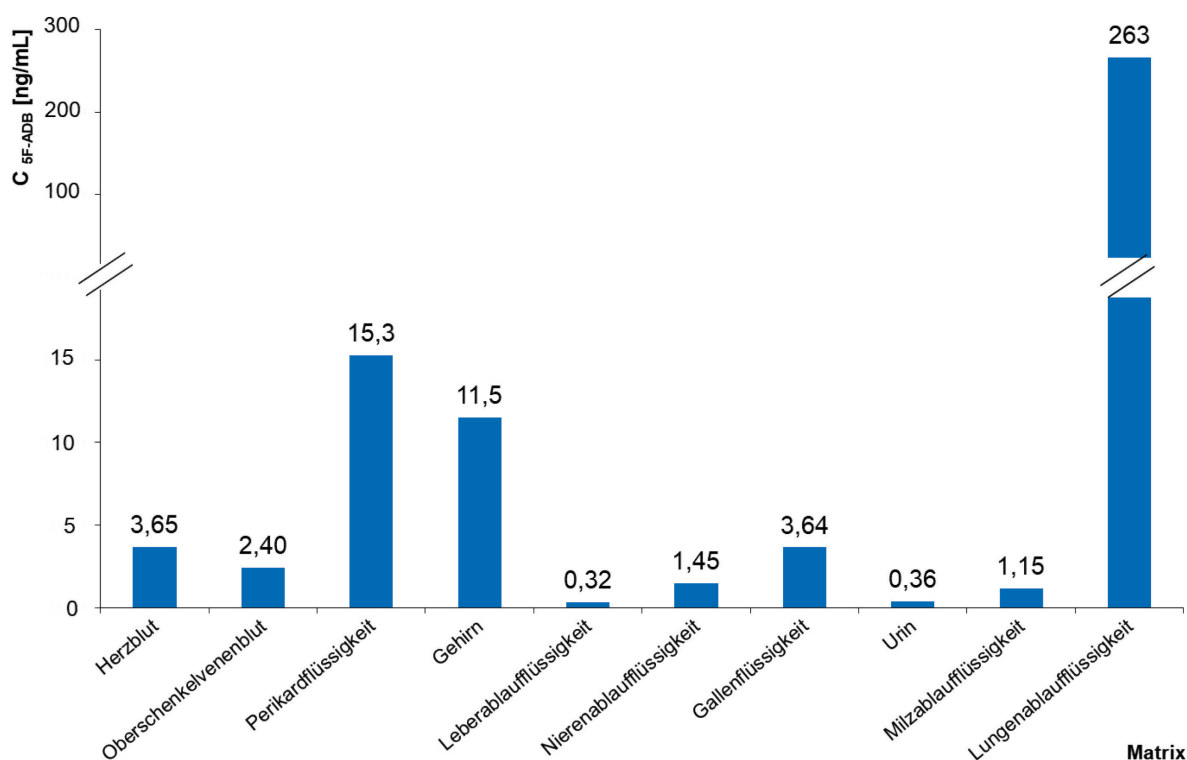
Todesfälle	Konzentration im HB [ng/mL]	Konzentration im OSV [ng/mL]
Fall 1	0,41	0,10
Fall 2	0,33	0,28
Fall 3	3,65	2,40
Fall 4	ca. 0,05	ca. 0,02

In den Fällen 1, 2 und 4 lagen die ermittelten Konzentrationen im OSV unterhalb von 1 ng/mL. Im dritten Fall wurde eine teilweise mehr als zehnfach erhöhte Konzentration von 5F-ADB gegenüber den anderen Fällen festgestellt. Des Weiteren wurden hier im Blut noch zwei weitere SCRA mit ADB-CHMINACA (0,87 ng/mL) und MDMB-CHMICA (<0,10 ng/mL) sowie die Medikamente Tramadol (127 ng/mL), Flupirtin (469 ng/mL) und Alprazolam (8,3 ng/mL) nachgewiesen (lt. Befundbericht des Institutes für Rechtsmedizin Freiburg). Die Analyse des Urins ergab den zusätzlichen qualitativen Nachweis von Pregabalin und Tilidin-Metaboliten.

In den Todesfällen 1 und 2 wurden im Urin MDMB-CHMICA (Fall 1) und 5F-ABICA (Fall 2) nachgewiesen. Im vierten Fall wurde zusätzlich eine Blutalkoholkonzentration von 2,22 ‰ ermittelt.

Aufgrund der vergleichsweise höheren Konzentration an 5F-ADB im Fall 3 sind weitere asservierte Körperflüssigkeiten wie Herzblut, Urin und Perikardflüssigkeit sowie Organhomogenate (Gehirn, Leber und Lunge) auf ihre Konzentrationen an 5F-ADB untersucht worden. Für die Analyse der Organhomogenate und anderen Körperflüssigkeiten wurde die LC-ESI-MS/MS-Methode mit der ShimPack FC-ODS-Säule für 5F-ADB verwendet. Die Quantifizierung erfolgte (semiquantitativ) über der Kalibration aus Vollblut. Abbildung 22 präsentiert die Verteilung von 5F-ADB in den verschiedenen Körperflüssigkeiten und Organhomogenaten. Anhand der hohen Konzentration in der Lungenablaufflüssigkeit lässt sich eindeutig die inhalative Aufnahme des SCRA nachweisen. Die relativ hohen

Konzentrationen in der Perikardflüssigkeit und im Gehirn werden durch die Lipophilie der Substanz begünstigt.



**Abb. 22: 5F-ADB-Konzentrationen in den untersuchten Körperflüssigkeiten und Organhomogenaten des dritten Todesfalls**

Die Betrachtung der geringen Konzentrationen von 5F-ADB in den Eliminationsorganen lassen den Schluss zu, dass der Tod relativ zeitnah nach dem Rauchen der Kräutermischung eingetreten ist. Allerdings muss eine potenzielle Verstoffwechslung von 5F-ADB mit berücksichtigt werden. Anhand der Arbeit von Barcelo et. al [57] sind die Massenübergänge der beiden Hauptmetaboliten, das 5-Hydroxypentyl-Produkt und das Esterhydrolyse-Produkt, in die LC-ESI-MS/MS-Methode übernommen worden und die Proben wurden erneut analysiert. Die Ergebnisse sind in Abbildung 23 dargestellt. Die Analyse der Metabolite ergab ein ähnliches Bild in der Verteilung zum 5F-ADB. In der Lunge und den lipophilen Flüssigkeiten (Perikard-, Gallenflüssigkeit) waren die Gehalte beider Metabolite deutlich höher als im Ausscheidungsprodukt Urin. Das Esterhydrolyse-Produkt wurde zudem vorrangig in den Eliminierungsorganen nachgewiesen. Das 5-Hydroxypentyl-Produkt war hingegen nicht bzw. nur sehr gering in den am Metabolismus- und Ausscheidungsprozess beteiligten Organen nachweisbar.

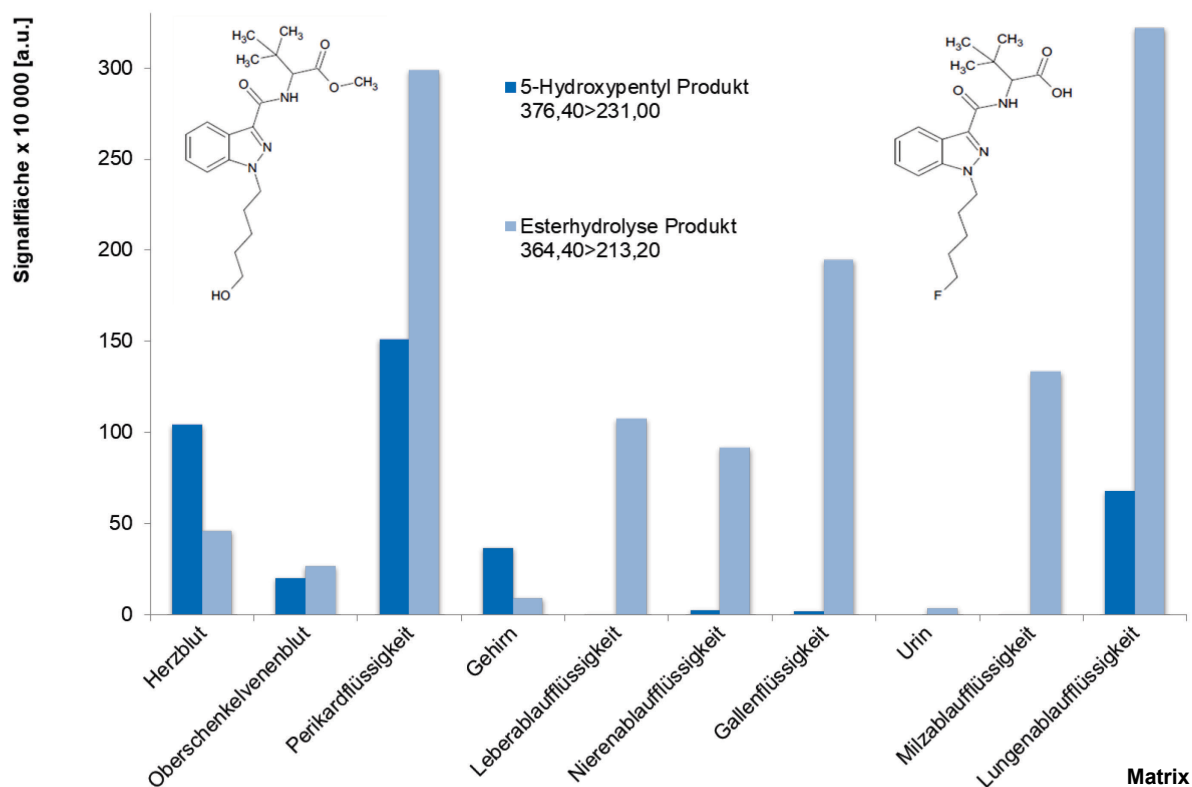


Abb. 23: Verteilung der 5F-ADB Metaboliten 5-Hydroxypentyl- und Esterhydrolyse-Produkt in den untersuchten Körperflüssigkeiten und Organhomogenaten des dritten Todesfalls. Links: Hydroxypentyl-Struktur, rechts: Esterhydrolyse-Produkt nach Barcelo et al. [57]

#### 4.2.2 Nachweis von Methylon in Serumproben von Konsumenten

Im Rahmen dieser Arbeit wurde die validierte LC-ESI-MS/MS für den Nachweis von Cathinonen zur Nachuntersuchung von positiven Methylon-Fällen angewandt. Im Rahmen der ärztlichen Versorgung während eines Musikfestivals im Jahr 2013 wurden im Nachgang 22 Proben mittels GC-MS positiv auf Methylon gemessen. In Abbildung 24 sind die Ergebnisse der GC-MS-Messungen aus dem Jahr 2013 mit den Ergebnissen der LC-ESI-MS/MS-Methode gegenübergestellt. In allen 22 Serumproben konnte mit der neu validierten LC-ESI-MS/MS-Methode für Cathinone Methylon zuverlässig nachgewiesen werden. Die Messergebnisse dieser Nachuntersuchung sind bei allen Proben (außer Probe 7 und 9) geringer als die ermittelten Konzentrationen mit den GC-MS-Messungen aus dem Jahr 2013. Insgesamt 13 der 22 Proben zeigten einen Konzentrationsunterschied von über 30 %, wobei 12 Proben davon in einem Bereich zwischen 30 % und 70 % liegen (Ausnahme Probe 17 mit 92 %). Die übrigen sieben Proben wiesen einen Konzentrationsunterschied von 5 % bis 20 % auf. Eine Ursache dafür könnte in der mehrjährigen Probenlagerungszeit (bei -20°C) und einem damit einhergehenden möglichen Abbau von Methylon begründet sein. Zudem sind die Konzentrationen in der GC-MS-Analytik mittels ISTD (Methylon-d<sub>3</sub>) und R<sub>f</sub> berechnet worden.



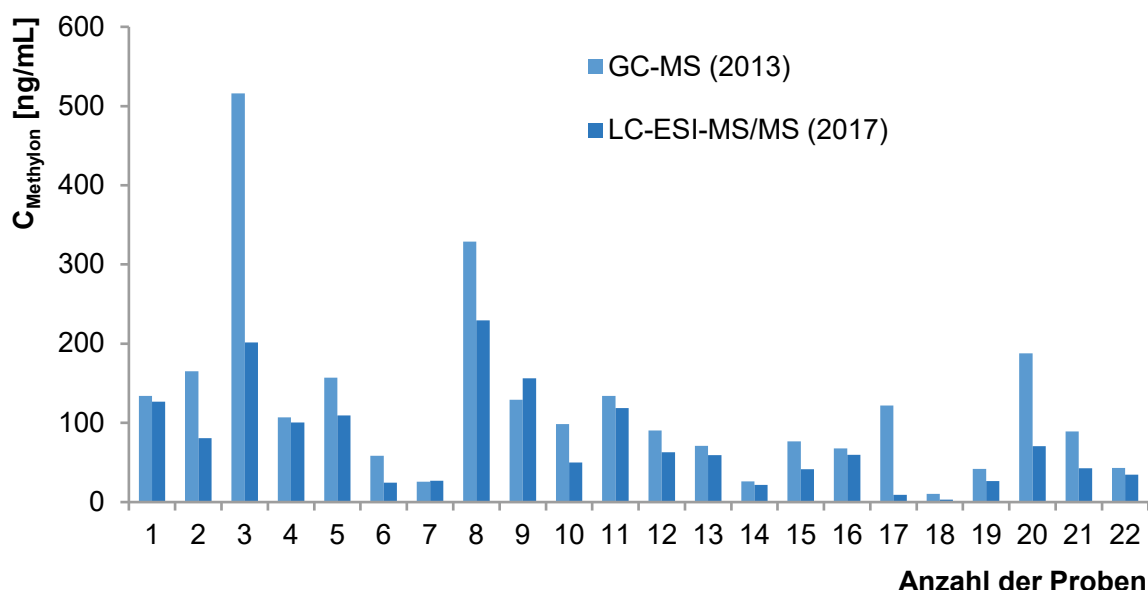


Abb. 24: Ergebnisse der mittels GC-MS und LC-ESI-MS/MS gemessenen 22 Serumproben zum Nachweis von Methylon

#### 4.2.3 Nachweis von BZD/Z-Drugs in Serumproben sowie in Haaren mittels LC-ESI-MS/MS

In der Diplomarbeit von Felicia Möller [49] ist die validierte LC-ESI-MS/MS-Methode für den Nachweis von BZD/Z-Drugs im Serum zur Nachuntersuchung von 13 Patientenproben sowie zur Ermittlung von Betäubungsmitteln im Haar (Ringversuch DHF 3/16) zur Anwendung gekommen. Des Weiteren wurde sie für die Analyse der Ringversuche BFZ 2/18 und BZF 3/19 im Rahmen des Qualitätsmanagementsystems (zertifizierte externe Qualitätskontrollen) genutzt.

Der Haar-Ringversuch mit den sechs nachzuweisenden Substanzen Alprazolam (Messwert 0,46 ng/mg; Zielwert 0,321 ng/mg), Bromazepam (Messwert 0,45 ng/mg; Zielwert 0,501 ng/mg), Diazepam (Messwert 0,47 ng/mg; Zielwert 0,447 ng/mg), Flunitrazepam (Messwert 0,26 ng/mg; Zielwert 0,204 ng/mg), Nordazepam (Messwert 0,46 ng/mg; Zielwert 0,348 ng/mg) und Oxazepam (Messwert 0,32 ng/mg; Zielwert 0,232 ng/mg) ist mit Ausnahme von Alprazolam bestanden worden. Alprazolam zeigte im LC-MS/MS-Chromatogramm ein deutliches Fronting. Die Abgabefrist des Ringversuches lag bereits drei/vier Wochen nach Beginn der Methodenentwicklung – einem Zeitpunkt, an dem die Methode analytisch noch nicht vollends aufgebaut und ausgereift war. Im Laufe der weiteren Methodenoptimierung wurde dieses analytische Problem gelöst. Die Berechnung der Konzentrationen erfolgte daher mit Hilfe der ISTD und der Rf.

In den Ringversuchen BZF 2/18 und BZF 3/19 waren jeweils 17 Substanzen quantitativ zu bestimmen. Für diese Ringversuche wurden die Kalibrierbereiche der einzelnen Analyten so gewählt, dass sie den vorgegebenen Erwartungsbereichen der Ringversuche entsprechen.

Für Bromazepam, Diazepam, Lorazepam, Midazolam, Nitrazepam, Nordazepam, Oxazepam, Temazepam und Zolpidem wurde folgende Kalibratoren verwendet: 5, 100, 150, 200, 250 und 300 ng/mL. Für 7-Aminoflunitrazepam, Alprazolam, Clonazepam, Flunitrazepam, Lormetazepam, Norflunitrazepam und Zopiclon fanden folgende Kalibratoren Anwendung: 1, 5, 10, 25, 50, 75 und 100 ng/mL. Am Analyten ACP (Metabolit des Zopiclons) wurde in beiden Ringversuchen nicht teilgenommen. Die Ergebnisse der Ringversuche sind in Tabelle 24 dargestellt. Es lagen, mit Ausnahme von Lormetazepam, alle 15 Substanzen in den Bewertungsgrenzen und erfüllten damit die Kriterien des Ringversuches. Lormetazepam ist der einzige Analyt im Ringversuch, für den kein eigener isotope markierter Standard vorhanden war, was ein Grund für das Nichtbestehen gewesen sein könnte. Die Kalibrierung erfolgte über eine externe Kalibrierfunktion.

Die Abweichungen der ermittelten Konzentrationen von den Zielwerten (Z-scores) lagen für die einzelnen Substanzen oftmals im Bereich von -1 bis +1. Beispielhaft wurden für Clonazepam und Norflunitrazepam jeweils nahezu die Zielwerte erreicht. Insgesamt zeigten die Bestimmungen der drei Ringversuche, dass die LC-ESI-MS/MS-Methode für die BZD/Z-Drugs für Routineanalysen geeignet ist und zur Bearbeitung entsprechend eingesetzt werden kann.

Tab. 24: Ergebnisse der Ringversuche BZF 2/18 und BZF 3/19, ermittelt mit der validierten LC-ESI-MS/MS-Methode für BZD/Z-Drugs

Substanz	Zielwert BZF 2/18 [ng/mL]	Bewertungsgrenzen BZF 2/18 [ng/mL]	Unser Ergebnis [ng/mL]	Zielwert BZF 3/19 [ng/mL]	Bewertungsgrenzen BZF 3/19 [ng/mL]	Unser Ergebnis [ng/mL]
7-Amino- flunitrazepam	14,7	5,7 – 23,7	18,7	20,3	8,5 – 32,1	24,7
Alprazolam	60,6	31,0 – 90,2	36,9	34,1	15,9 – 52,3	36,5
Bromazepam	171	99,0 – 243	195	140,0	78,0 – 202,0	164
Clonazepam	75,8	40,0 – 111,6	71,5	54,6	27,4 – 81,8	66,4
Diazepam	544	352 – 736	568	451,0	287,0 – 615,0	421
Flunitrazepam	7,39	2,95 – 11,83	4,93	10,7	4,1 – 17,3	8,29
Lorazepam	173	99,0 – 247,0	141	71,9	37,7 – 106,1	55,1
Lormetazepam	13,8	5,4 – 22,2	27,8	11,5	4,5 – 18,5	26,1
Midazolam	196	114,0 – 278,0	264	103,0	55,0 – 151,0	133
Nitrazepam	68,5	35,5 – 101,5	45,5	82,4	44,0 – 120,8	74,4
Nordazepam	496	318 – 674	375	375,0	235,0 – 515,0	316
Norflunitrazepam	13,9	5,5 – 22,3	13,3	12,8	5,0 – 20,6	12,3
Oxazepam	250	150,0 – 350,0	244	258,0	156,0 – 360,0	225
Temazepam	185	107,0 – 263,0	175	146,0	82,0 – 210,0	162
Zolpidem	126	70,0 – 182,0	76,4	142,0	80,0 – 204,0	109
Zopiclon	81,9	43,7 – 120,1	64,6	82,7	44,1 – 121,3	62,6

Zudem wurden 13 Patientenproben aus dem Institut für Rechtsmedizin Rostock, welche zuvor routinemäßig mit der HPLC-DAD-Methode untersucht wurden, auf BZD/Z-Drugs mit der neu validierten LC-ESI-MS/MS-Methode nachuntersucht. Die Ergebnisse sind mit denen der HPLC-DAD-Analytik in Tabelle 25 (auszugsweise entnommen aus der Diplomarbeit von Felicia Möller [49]) aufgeführt.

**Tab. 25: Ermittelte Konzentrationen von BZD/Z-Drugs mittels HPLC-DAD und LC-ESI-MS/MS in 13 Patientenproben (Auszug) [49]**

Proben-Nr.	Analyt	C <sub>HPLC-DAD</sub> [ng/mL]	C <sub>LC-ESI-MS/MS</sub> [ng/mL]
1	Clonazepam	27,7	26,8
2	Clonazepam	70,8	57,5
3	Lorazepam	14,5	24,8
4	Midazolam	nur qualitativ	183,0
	α-Hydroxymidazolam	nur qualitativ	38,3
5	Lorazepam	132	176
	Nitrazepam	171	128,2
	Zopidem	96,1	170
6	Alprazolam	190	678
	Diazepam	11,6	28,5
	Nordazepam	-	26,5
	α-Hydroxyalprazolam	-	231
	Temazepam	-	2,34
7	Lorazepam	327	535
	Diazepam	785	683
	Nordazepam	1539	2120
	Oxazepam	7,1	29,9
	Temazepam	33,9	45,5
8	Clonazepam	99,1	157
	Diazepam	856	797
	Nordazepam	1765	2682
	Oxazepam	63,7	204
	Temazepam	147	205
	Lorazepam	12,8	36,6

Proben-Nr.	Analyt	C <sub>HPLC-DAD</sub> [ng/mL]	C <sub>LC-ESI-MS/MS</sub> [ng/mL]
9	Clonazepam	50,9	61,5
10	Lorazepam	65,3	114
	Diazepam	319	351
	Nordazepam	146	240
	Oxazepam	11,7	26,2
	Temazepam	25	43,6
11	Lorazepam	7,3	18,3
12	Alprazolam	156	119
13	Lorazepam	38,9	52,1

Midazolam und  $\alpha$ -Hydroxymidazolam wurden mithilfe der neuen LC-ESI-MS/MS-Methode quantifiziert. Im Rahmen der Routineanalytik wird auf eine Quantifizierung verzichtet, wenn es sich um eine dokumentierte notfallmedizinische Gabe handelt. Einige Analytkonzentrationen lagen außerhalb des jeweiligen Kalibrierbereiches (bis 200 ng/mL). Bei deutlichem Überschreiten des Kalibrierbereiches (Fall 7 und 8 für Nordazepam) sollten die Ergebnisse als semiquantitativ gewertet werden. Es ergaben sich auch hier Unterschiede in den ermittelten Konzentrationen zwischen den beiden Methoden. Das könnte u.a. wie bei den Proben mit Methylon auf die Lagerungsdauer zurückzuführen sein. Des Weiteren wurden die durch LC-ESI-MS/MS erhaltenen Konzentrationen mit Hilfe von Kalibrierfunktionen und internen Standards berechnet, während sie bei der HPLC-DAD über Rf und interne Standards ermittelt wurden.

#### 4.3 Analyse der unbekannten Substanzproben

Im Rahmen dieser Arbeit wurden insgesamt 482 Substanzproben in Form von Kräutermaterialien und „Research Chemicals“ (Abb. 25) aus polizeilichen Sicherstellungen auf ihre Inhaltsstoffe untersucht. Die Wirkstoffgehalte in den Kräutermaterialien wurden zusätzlich bestimmt [54;55].



Abb. 25: Beispiele der zu untersuchenden sichergestellten Substanzproben, hier „Research Chemicals“

#### 4.3.1 Qualitative und quantitative Analyse der SCRA aus Stoffproben

Es wurden zunächst 222 Päckchen mit Kräutermaterialien aus einer polizeilichen Sicherstellung bezüglich ihrer Inhaltsstoffe untersucht. Dazu sind Aliquote der Kräutermaterialien mithilfe von GC-MS im Scan-Modus vermessen und die aufgenommenen Spektren mit den aktuellen Spektrenbibliotheken von Cayman und SWGDRUG verglichen worden [52;53]. Insgesamt konnten in dieser Sicherstellung acht verschiedene SCRA qualitativ detektiert werden. Die größte Anzahl an Päckchen (64) beinhaltete 5F-AB-PINACA, gefolgt von AB-CHMINACA in 54 Kräutermischungen. Der Nachweis von ADB-PINACA erfolgte in 36 Päckchen, während AB-PINACA (20), AB-FUBINACA (14) und MMB-CHMICA in 11 Kräutermischungen nachgewiesen wurden. Das SCRA 5F-ADB konnte in 3 Päckchen identifiziert werden. Zum ersten Mal deutschlandweit wurde zu diesem Zeitpunkt 5F-MDMB-PICA im Kräutermaterial detektiert (20 Päckchen). Die Verteilung der acht SCRA in dieser Sicherstellung ist prozentual in Abbildung 26 dargestellt.

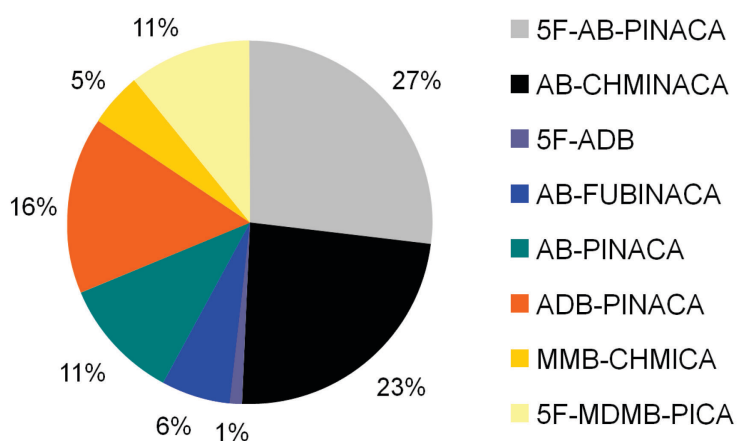
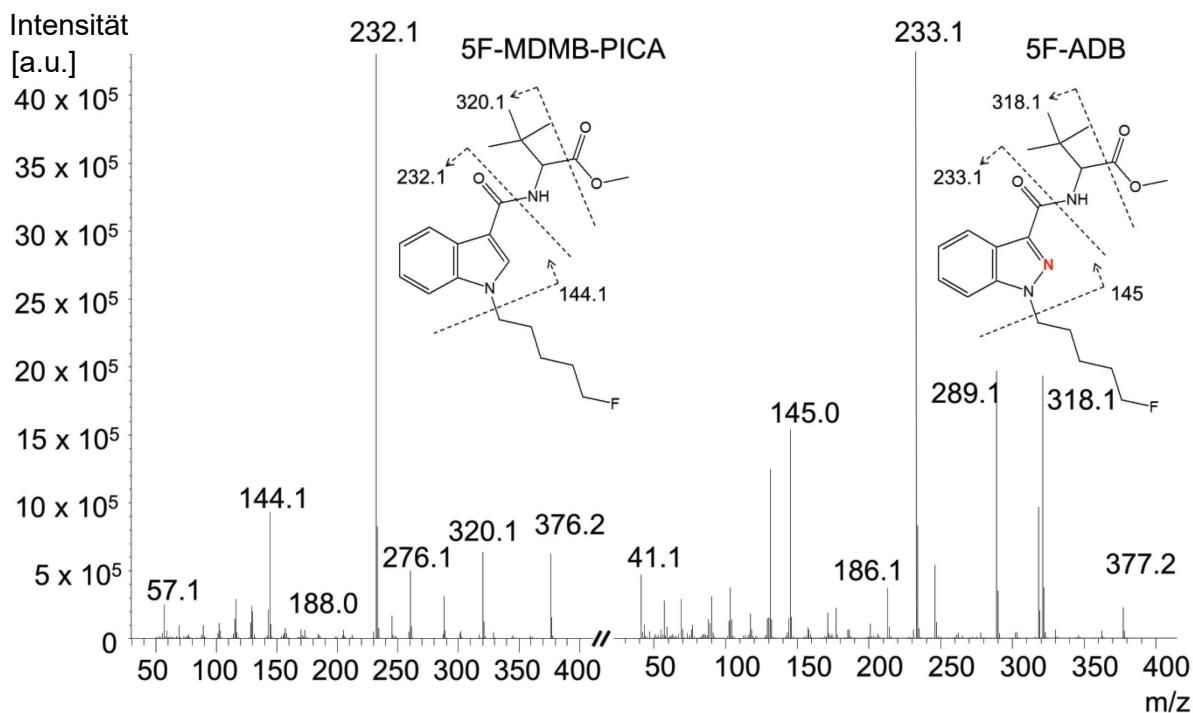
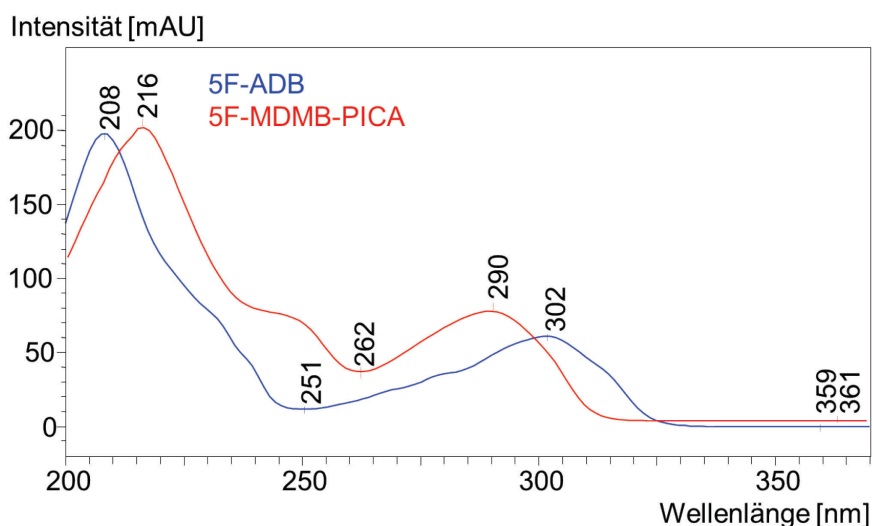


Abb. 26: Anteil der acht verschiedenen SCRA in den sichergestellten 222 Kräuterpäckchen

Das neu identifizierte 5F-MDMB-PICA ist ein weiteres Beispiel für die strukturelle Ähnlichkeit der SCRA's. Es unterscheidet sich vom 5F-ADB lediglich durch einen Indol-Ring anstelle eines Indazol-Ringes (ein N-Atom im Ringsystem mehr). Daraus resultieren Unterschiede im Massen- und UV-Spektrum, welche in den Abbildungen 27 und 28 dargestellt sind.



**Abb. 27: EI-Massenspektren sowie mögliche Fragmentierungsmuster anhand der Strukturformeln von 5F-ADB und 5F-MDMB-PICA**



**Abb. 28: UV-Spektren von 5F-ADB und 5F-MDMB-PICA mittels HPLC-DAD**

Nach erfolgreicher Identifizierung der Inhaltsstoffe in den einzelnen Kräutermischungen erfolgte deren Gehaltsbestimmung. Dazu wurden je nach Größe des homogenisierten Pools (Chargen) mehrere Subproben entnommen und mittels HPLC-DAD-Methoden analysiert.

Exemplarisch soll hier das Verfahren und Ergebnis anhand von 5F-MDMB-PICA präsentiert werden.

Mithilfe geeigneter Referenzsubstanzen und jeweils einer Realprobe wurden zunächst die chromatographischen Bedingungen der Methoden ermittelt. So erwies sich für 5F-AB-PINACA der Eluent A<sub>1</sub> mit der Zusammensetzung ACN : Phosphatpuffer (pH 2,3) = 1:1,5 (v:v) und einer konstanten Fließgeschwindigkeit von 1,5 mL/min für die Analysendauer von 50 min als besonders geeignet. Für 5F-MDMB-PICA und die anderen sechs SCRA ist der Eluent A<sub>2</sub> mit ACN : Phosphatpuffer (pH 2,3) = 1,667:1 (v:v) sowie ein Flussgradient von 0,75 mL/min auf 1,5 mL/min für die Analysendauer von 30 min gewählt worden. Das Injektionsvolumen betrug jeweils 20 µL. Anhand dieser optimierten Methoden konnte sichergestellt werden, dass mögliche Matrixinterferenzen sowie ein Carry-over ausgeschlossen werden. Für die Kalibrationen sind verkürzte Analysenmethoden (12 min) verwendet worden. In Tabelle 26 sind die t<sub>R</sub> der Analyten zusammengefasst.

**Tab. 26: Retentionszeiten der acht SCRA für die HPLC-DAD-Methoden**

Analyt	t <sub>R</sub> [min]
AB-PINACA	5,0
AB-FUBINACA	5,3
5F-AB-PINACA	7,0
ADB-PINACA	7,2
AB-CHMINACA	7,5
5F-MDMB-PICA	8,4
5F-ADB	10,5
MMB-CHMICA	11,5

Die Kalibrierbereiche wurden mithilfe der gemessenen Realprobe pro SCRA festgelegt. Für 5F-MDMB-PICA ergab sich ein Arbeitsbereich von 50 µg/mL bis 300 µg/mL. Um eine möglichst aussagekräftige Gehaltsangabe der Inhaltsstoffe in den homogenisierten Pools zu erhalten, wurden pro zehn Gramm Kräutermischung ein Aliquot gemessen. Im Fall von 5F-MDMB-PICA sind acht Subproben vom Pool (m = 72,4 g) analysiert worden. Im Mittel ergab sich ein Substanzgehalt von 36,9 mg/g, was einem Absolutgehalt von 2,67 g entspricht. Der ermittelte Gesamtwirkstoffgehalt von 2,67 g repräsentiert 3,68 % von der Gesamtmasse des Pools.

Die 64 Päckchen, welche 5F-AB-PINACA beinhalteten, wurden in 17 Chargen aufgeteilt. Es ergaben sich Substanzgehalte von 1,64 mg/g bis 40,1 mg/g. Sieben Chargen mit



AB-CHMINACA (54 Kräutermischungen) wiesen Gehalte von 2,53 mg/g bis 21,3 mg/g auf. Die Substanzgehalte von AB-FUBINACA (14 Päckchen à fünf Chargen) wurden mit 28,5 mg/g bis 48,6 mg/g bestimmt und von AB-PINACA (20 Päckchen à neun Chargen) mit 1,59 mg/g bis 49,7 mg/g. AB-FUBINACA ist in allen 14 Päckchen zusammen mit AB-PINACA nachgewiesen worden, wobei AB-FUBINACA den Hauptanteil in den Päckchen ausmachte (durchschnittlich zehnfacher Gehalt gegenüber AB-PINACA). ADB-PINACA, MMB-CHMICA und 5F-ADB wurden jeweils in zwei Pools aufgeteilt und folgende Gehalte ermittelt:

6,09 – 15,6 mg/g für ADB-PINACA, 9,87 – 16,1 mg/g für MMB-CHMICA und 6,51 mg/g bis 7,33 mg/g für 5F-ADB. Mit Ausnahme von 5F-MDMB-PICA, ADB-PINACA, MMB-CHMICA und 5F-ADB sind die Spannweiten, Mediane und Mittelwerte der prozentualen Substanzgehalte der einzelnen SCRA in den Chargen Tabelle 27 zu entnehmen.

**Tab. 27: Spannweiten, Mediane und Mittelwerte der Substanzgehalte der jeweiligen Chargen von den SCRA mit mehr als zwei Chargen**

Analyte	C <sub>Min</sub> [%]	C <sub>Max</sub> [%]	C <sub>Mittelwert</sub> [%]	C <sub>Median</sub> [%]
5F-AB-PINACA	0,16	4,02	2,70	3,00
AB-CHMINACA	0,25	2,14	0,60	0,33
AB-FUBINACA	0,35	4,87	3,13	3,64
AB-PINACA	0,16	4,98	2,46	2,36

Für diese vier SCRA konnten einerseits sehr hohe Konzentrationen in bzw. andererseits auch sehr große Spannweiten der Konzentrationen zwischen den einzelnen Abpackungen festgestellt werden.

In Tabelle 28 sind die Gesamtgehalte für die Gesamtmasse der verschiedenen Kräuterpäckchen pro SCRA zusammengefasst und den vorgeschlagenen Grenzwerten für die „nicht-geringe Menge“ gegenübergestellt [28]. Für 5F-AB-PINACA und AB-FUBINACA wurden die vorgeschlagenen Grenzwerte für die „nicht-geringe Menge“ für SCRA von 1 g überschritten. Für MMB-CHMICA und 5F-MDMB-PICA sind die Grenzwerte bis zur Veröffentlichung dieser Arbeit noch nicht aktualisiert festgelegt worden.

Tab. 28: Gesamtwirkstoffgehalte, Gesamtmassen der Päckchen und vorgeschlagene Grenzwerte der „nicht-geringen Menge“ für die acht SCRA [28]

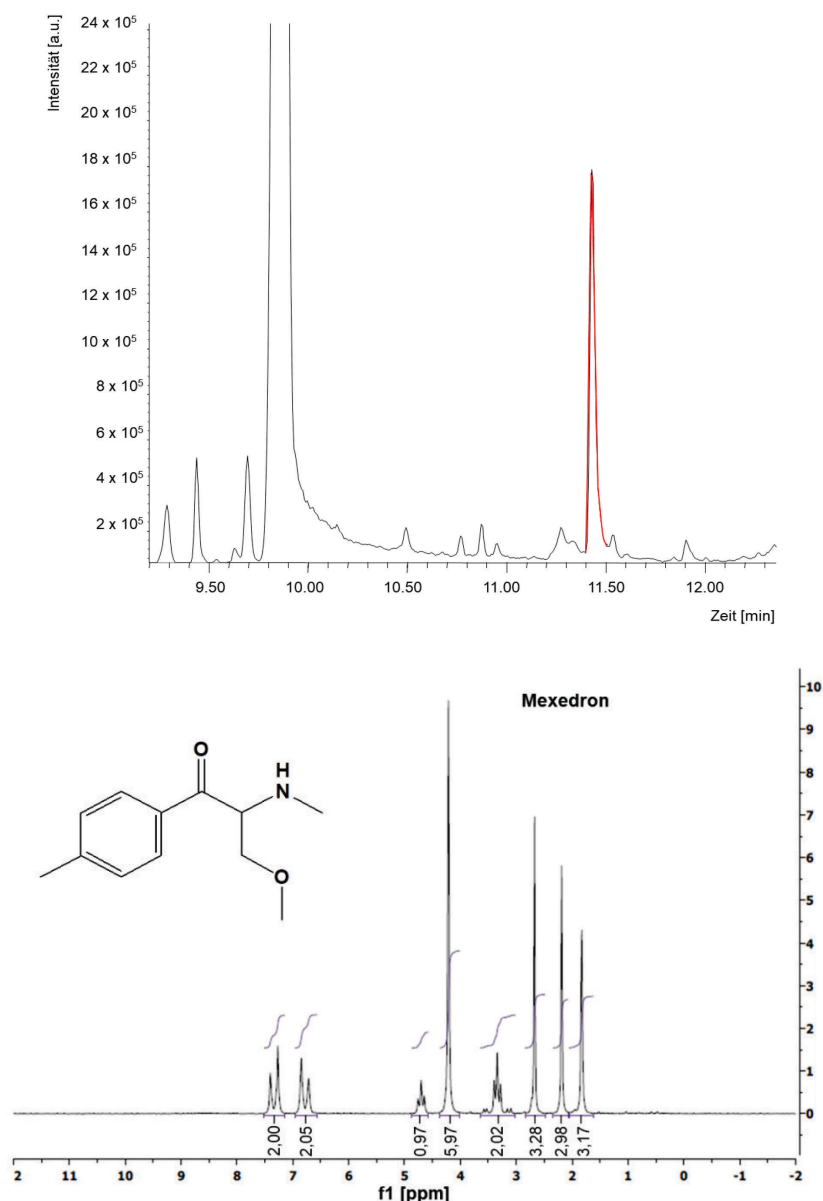
Analyt	Gesamtgehalt [g]	Gesamtmasse der Päckchen [g]	vorgeschlagener Grenzwert „nicht-geringe Menge“
5F-AB-PINACA	6,15	211	1 g
5F-ADB	0,038	5,72	1 g
5F-MDMB-PICA	2,67	72,4	-
AB-CHMINACA	0,400	107	1 g
AB-FUBINACA	1,71	42,1	1 g
AB-PINACA	0,115	42,1	1 g
	0,251	5,42	
ADB-PINACA	0,622	52,7	1g
MMB-CHMICA	0,168	14,2	-

#### 4.3.2 Qualitative Analyse von Stoffproben in Form von Kräutermaterialien und „Research Chemicals“

Zunächst wurden 260 Stoffproben aus einer polizeilichen Sicherstellung mittels GC-MS und den Spektrenbibliotheken von Cayman Chemicals [52] und SWGDRUG [53] hinsichtlich des Inhaltes untersucht. Einige Päckchen waren mittels GC-MS jedoch nicht eindeutig zu identifizieren, sodass zusätzlich mittels HPLC-DAD und gegebenenfalls nach Eingrenzung auf wenige Substanzen nach deren Precursor-Ion sowie Produkt-Ionen mittels LC-ESI-MS/MS-Scan gesucht wurde. So konnte eine große Anzahl der Inhaltsstoffe der einzelnen Päckchen zuverlässig bestimmt werden. Die wenigen verbliebenen Stoffproben, deren Inhaltsstoffe nicht eindeutig aufzuklären waren, wurden durch Messungen mittels Benchtop NMR (Magritek) und hochauflösender NMR (Organische Chemie, Universität Rostock) weiter untersucht.

Ein Beispiel dafür waren Stoffproben mit der Aufschrift „Mexedrone“, deren Inhaltsstoffe erst eindeutig mittels NMR aufgeklärt werden konnten. Anhand der GC-MS-Messung wurde zunächst das Messsignal mit der höchsten Intensität (Abb. 29, bei 9,9 min) als spezifisches Signal angenommen. Das entsprechende Massenspektrum konnte jedoch keinem Spektrum in den verwendeten Spektrenbibliotheken zugeordnet werden. Nach Analyse der Massenfragmente und Hinzuziehens der LC-ESI-MS/MS-Spektren wurde erst von einem Methylphenylpropionoxypiperidin (MPPP)-Analogon (Opioid) ausgegangen, welches auch als „synthetisches Heroin“ bekannt ist. Die anschließende NMR-Messung zeigte aber ein

differentes Ergebnis und bestätigte, dass es sich um das deklarierte Mexedron handelte. Nach nochmaliger Prüfung der GC-MS-Messungen wurde Mexedron bei einer  $t_R$  von 11,4 min mithilfe der Spektrenbibliotheken identifiziert. Aufgrund der Tatsache, dass die NMR-Untersuchungen keine Hinweise auf eine zweite relevante Substanz in der Probe lieferten, wurde auf die finale Strukturaufklärung einer möglichen Beikomponente bei der  $t_R$  von 9,9 min verzichtet. Abbildung 29 zeigt das GC-MS-Chromatogramm (rot markiert) und das  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum für Mexedron in  $\text{D}_2\text{O}$ .

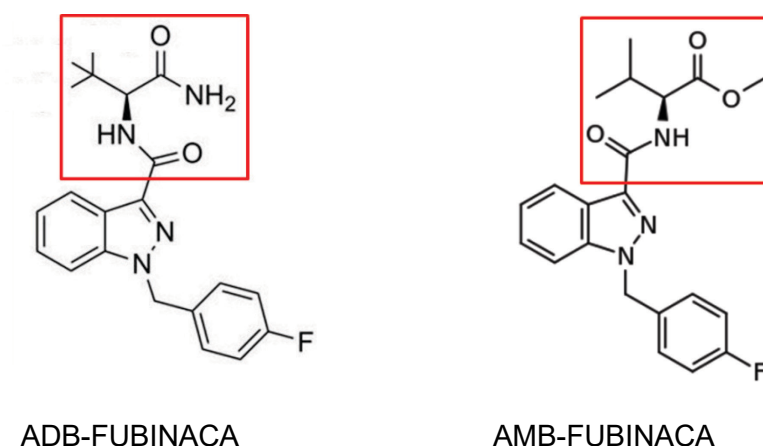


**Abb. 29: GC-MS-Chromatogramm (rotes Signal) und  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von Mexedron**

Im  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von Mexedron ist das Singulett der  $\text{CH}_3$ -Gruppe am Aromaten bei 1,5 – 2 ppm und das Singulett der  $\text{CH}_3$ -Gruppe am Stickstoff bei 2 – 2,5 ppm zu sehen, währenddessen die  $\text{CH}_3$ -Gruppe am Sauerstoff als Singulett bei 2,5 – 3 ppm zu finden ist. Die  $\text{CH}_2$ -Protonen sind bei 3 – 3,5 ppm von zwei Dupletts überlagert. Das Triplett bei

4,5 - 5 ppm ist spezifisch für Methin-Proton. Die aromatischen Protonen in m- und o-Position sind hier als Dupletts bei 6,5 – 7 ppm und 7 – 7,5 ppm zu sehen.

Analog wurden die NMR-Spektren für N-Methyl-p-toluidin und Flephedron (Stoffproben), sowie für AB-FUBINACA und ADB-FUBINACA (Standardsubstanzen) in den Modi  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , DEPT, COSY, HSQC-ME und HMBC aufgenommen. Bis auf ADB-FUBINACA konnten alle Substanzen mit NMR bestätigt werden. Bei ADB-FUBINACA ist eine L-Valinat-Gruppe anstelle der vermuteten Valinamid-Gruppe identifiziert worden, sodass es sich bei dem Standard um AMB-FUBINACA handelt (Abb. 30).



**Abb. 30: Struktureller Unterschied (rot markiert) zwischen ADB-FUBINACA und AMB-FUBINACA**

Die Ergebnisse der Untersuchungen der 260 sichergestellten Stoffproben sind in Tabelle 29 dargestellt.

**Tab. 29: Übersicht über die identifizierten Substanzen in den 260 sichergestellten Stoffproben und deren Häufigkeit**

Analyt	Anzahl der Päckchen
3-CE	2
4-CEC	11
5-APDB	19
5F-ABICA	16
5-MeO-MiPT	26
ADB-CHMINACA	12
bk-2C-B	9
bk-EBDB	10
EG-018	19
Flephedron	6

Analyt	Anzahl der Päckchen
HEX-EN	14
Isosafrologlycol, Vinyl-3,4-methylen-dioxybenzoat	1
Methoxyphenidin	8
Mexedron	24
N-isopropyl-1-(4-methylphenyl)-2-aminopropan-1-on	10
Nitracain	9
N-Methyl-p-toluidin	3
PV-9	34
PX-2	11
Sildenafilanalogon III	11
TH-PVP	4
TV-PVP	1

Insgesamt konnten in den 260 untersuchten Stoffproben 22 Substanzen gefunden werden. Den mengenmäßig größten Anteil an den Stoffproben machten die Substanzen PV-9 (34 Päckchen), 5-MeO-MiPT (26 Päckchen) und Mexedron mit 24 Päckchen aus. Zugeordnet in die einzelnen Stoffgruppen ergab sich die in Abbildung 31 dargestellte Verteilung der Substanzen.

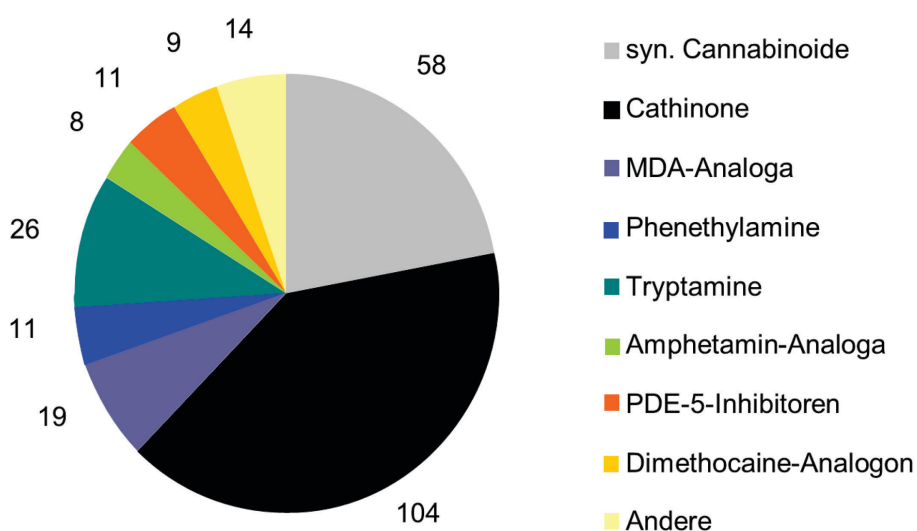


Abb. 31: Häufigkeit der verschiedenen Stoffgruppen in den 260 sichergestellten Stoffproben

Mit einem Gesamtanteil von 62,3 % sind die SCRAs (5F-ABICA, PX-2, EG-018 und ADB-CHMINACA) und die Cathinone (4-CEC, PV-9, HEX-EN, TH-PVP, Flephedron, Mexedron,

und N-iso-Propyl-1-(4-methylphenyl)-2-aminopropan-1-on) die am häufigsten vertretenen Stoffgruppen im Untersuchungsmaterial gewesen. In 10 % aller Päckchen wurde das Tryptamin 5-MeO-MIPT nachgewiesen. Das MDA-Analogon 5-APDB, die Phenethylamine bk-EBDB und 3-CE sowie der Phosphodiesterase (PDE)-5-Inhibitor Sildenafilanalogon III konnten in 7,3 % bzw. in jeweils 4,2 % der Päckchen analysiert werden. Das Dimethocain-Analogon Nitracain und das Amphetamin-Analogon Methoxiphenidin wurden als Inhaltsstoffe in jeweils 3,5 % der Päckchen festgestellt. N-Methyl-p-toluidin, Isosafrolglycol in Kombination mit Vinyl-3,4-methylenedioxybenzoat (Andere) sind zusammen in 5,4 % des Untersuchungsmaterials nachgewiesen worden. Denkbar wäre, dass es sich bei der Verbindung N-Methyl-p-toluidin um eine Vorstufe zur Herstellung von 2-NMC handelt, welches ähnlich den Cathinonen wirken soll.

Die Deklaration der einzelnen NpS-Päckchen mit ihren analysierten Inhaltsstoffen stimmte in 142 Fällen (54,6 %) überein. In allen Päckchen mit der Aufschrift FAB-144 wurde 5F-ABICA als Substanz detektiert – beide Substanzen gehören zur Gruppe der SCRA. Im Fall von  $\alpha$ -PHP (synthetisches Cathinon) beinhalteten alle Päckchen mit dieser Aufschrift hingegen das potente Tryptamin 5-MeO-MIPT.

Für die Charakterisierung der Proben mit der Deklaration als Acetildenafil mussten das UV-Spektrum, die Fragmentmuster der GC-MS und LC-ESI-MS/MS hinzugezogen werden, um eindeutig das Sildenafil-Analogon III zu identifizieren.

Bei der Analyse der Stoffproben handelte es sich insgesamt in 55 % der Päckchen um stimulierende Substanzen, in 22 % um potente CB<sub>1</sub>- und CB<sub>2</sub>-Rezeptoragonisten und in 10 % der Päckchen um halluzinogene Substanzen.

## 5. Diskussion

### 5.1 Etablierung und Validierung von LC-ESI-MS/MS-Methoden zum Nachweis von SCRA, Cathinonen und BZD/Z-Drugs im Serum

Im Rahmen dieser Dissertation sollten analytische Methoden zur LC-ESI-MS/MS von neuen psychoaktiven Stoffen (SCRA, Cathinone, BZD/Z-Drugs) etabliert und für den routinemäßigen Einsatz entsprechend internationaler Richtlinien validiert werden.

Die Methode der SCRA beschränkt sich auf die im Untersuchungsmaterial des Institutes für Rechtsmedizin Rostock im Bearbeitungszeitraum 2016 – 2017 aufgetretenen Substanzen. Es konnte die LC-ESI-MS/MS-Methode für insgesamt 12 der 15 SCRA vollständig nach den Richtlinien der GTFCh validiert werden. 5F-CUMYL-P7AICA erfüllte die Kriterien für Richtigkeit und Präzision nur für die hohe QC (7,0 ng/mL), obwohl die LLOQ unter 1,0 ng/mL lag. Diese Substanz konnte teil-validiert werden und liefert demzufolge semiquantitative Ergebnisse. MDMB-CHMCZCA wies eine Laborpräzision oberhalb von 20 % (23 % bzw. 28 %) auf sowie sehr geringe Extraktionsausbeuten. Daher konnten MDMB-CHMCZCA und EG-018 nicht validiert werden, wodurch nur qualitative Aussagen für diese Analyte resultieren. Eine Analyse der Konzentrationen in authentischen Proben könnte über den ermittelten Responsefaktor oder, bei ausreichend vorhandenem Probenmaterial, über das Verfahren der Standardaddition für MDMB-CHMCZCA erfolgen. Eine Wiederfindung oberhalb von 100 % wiesen besonders die hydrophileren Substanzen aus der Gruppe der Valin- bzw. *tert*-Leucin-Derivate auf. Als ein Grund könnte eine stärkere Adsorption an den Wänden der Gläschen beim Pipettieren der Substanzen nach der Extraktion angeführt werden, welche beim Pipettieren der Substanzen in Leerserum vor der Extraktion nicht so ausgeprägt stattfinden kann [58].

Die Substanzen für die LC-ESI-MS/MS-Methode zum Nachweis von Cathinonen wurden bereits bis 2016 teilweise im Untersuchungsmaterial des Institutes nachgewiesen. Von 25 Analyten konnten 23 Cathinone nach den Richtlinien der GTFCh vollständig validiert werden. Die Substanz PV-9 erfüllte die Kriterien für Richtigkeit und Präzision nur für die hohe QC (450 ng/mL). Für die niedrige und die mittlere QC konnten die Kriterien für Wiederholbarkeit und Laborpräzision, jedoch nicht für die Richtigkeit eingehalten werden. 4-Fluorephedrin erfüllte die Kriterien für die Wiederfindung sowie für die Extraktionsausbeuten nicht. Somit ergab sich für diese Substanzen eine Teil-Validierung.

Im Rahmen der Diplomarbeit von Felicia Möller konnte eine LC-ESI-MS/MS Methode zum quantitativen Nachweis von 37 BZD sowie von zwei Z-Substanzen entwickelt werden, welche für 38 Analyten nach den Richtlinien der GTFCh validierbar war. Neben den

klassischen BZD/Z-Drugs und ihren Metaboliten wurden auch 18 Designer-BZD erfasst. Für Nifoxipam konnte keine Kalibration mit mindestens fünf Kalibratoren im Bereich von 2 - 200 ng/mL erstellt werden, weshalb dieser Analyt nicht validiert wurde. Eine Analyse der Konzentrationen in authentischen Proben könnte alternativ über einen geeigneten ISTD oder, bei ausreichend vorhandenem Probenmaterial, über das Verfahren der Standardaddition erfolgen.

BZD/Z-Drugs weisen oftmals ein hohes Missbrauchspotential auf. Dieser Fakt sowie der stetig wachsende Markt der illegalen, meist sehr potenten Designer-BZD begründen die Notwendigkeit einer sensitiven Multikomponenten-Methode zum qualitativen und/oder quantitativen Nachweis dieser Substanzen. [59]

Wichtige Messparameter und analytische Kenngrößen sollen im Folgenden mit internationaler Fachliteratur vergleichend diskutiert werden.

Die vorgestellten Probenaufarbeitungen für die drei validierten Analysenmethoden sind einfach (LLE, wenige Probenaufarbeitungsschritte, keine Derivatisierung, keine Aufkonzentrierung für Cathinone und BZD/Z-Drugs), zeitsparend (Zeitaufwand pro Probe: 30 min SCRA, 20 min Cathinone, 25 min BZD/Z-Drugs) und ressourcensparend (niedrige Probenvolumina: 200 µL SCRA, jeweils 100 µL Cathinone und BZD/Z-Drugs; geringer Einsatz an Extraktionsmitteln, geringe Kosten für die Probenaufarbeitung). Die LLE ist aufgrund der hydrophoben Eigenschaften der SCRAs meist die Aufarbeitungsmethode der Wahl bei der Extraktion aus biologischen Matrices [60-65]. Bei der Entwicklung der Methode wurden neben der LLE zusätzlich Fällungen mit ACN und Phospholipid-Kartuschen durchgeführt, wobei sich zeigte, dass mit der LLE die höchsten Extraktionsleistungen resultierten.

Bei Sørensen [66] und Marinetti et al. [67] wurden für die Cathinone höhere Probenvolumina (300 µL bzw. 1 mL) eingesetzt. Für die Aufarbeitung sind die LLE mit längeren Zentrifugationszeiten und anschließender Ultrafiltration (Sørensen) und zum anderen die Proteinfällung und noch ein Aufkonzentrierungsschritt (Marinetti) als Methoden angewandt worden [66;67]. Andere Arbeitsgruppen verwendeten aufwendigere oder zeitintensivere Methoden wie QuEChERS [68;69] oder die Festphasenextraktion [70;71], sodass mit der hier entwickelten Methode für eine größere Anzahl an Analyten und einer kürzeren sowie einfacheren Aufarbeitung vergleichbare Ergebnisse erzielt werden konnten.

Beim Vergleich mit bereits publizierten Methoden für BZD/Z-Drugs fällt auf, dass einige u.a. die Festphasenextraktion [72] oder LLE mit anschließender Aufkonzentrierung und größeren Probenvolumina [73;74] anwendeten. Bei der Entwicklung der Methode wurden verschiedene Kombinationen an Extraktionsmitteln für die LLE und (Doppel-)Fällungen mit ACN und MeOH durchgeführt. Dabei zeigte sich, dass für die LLE mit BuCl im neutralen Bereich die höchsten Extraktionsleistungen auftraten. Die Extraktionseigenschaften von BuCl



sind für eine sehr große Anzahl strukturell unterschiedlicher Analyten im Arbeitskreis Extraktion der GTFCh bestimmt worden [75]. Da infolge dessen in der forensisch-toxikologischen Analyse BuCl als Extraktionsmittel weit verbreitet ist, wurde es für die lipophilen Analyten der SCRA, Cathinone und BZD/Z-Drugs final verwendet.

Die chromatographische Trennung für SCRA erfolgte bei Angerer [58] auf einer Kinetex C18 Säule, wohingegen für die entwickelten und validierten Methoden für SCRA, Cathinone und BZD/Z-Drugs eine C18 PFP verwendet wurde, die die Trennungseigenschaften einer C18-Phase für hydrophobe Verbindungen mit den Trennungseigenschaften der Pentafluorphenyl-Phase ( $\pi$ -Elektronenakzeptoren) für aromatische, halogenierte, polare Verbindungen kombiniert. Da Angerer [58] ausschließlich SCRA mit einer vielfachen Anzahl an Analyten aufgrund des umfangreichen Produktmonitorings von Spice-Päckchen mit der Methode nachweist, scheint eine reine C18-Säule für diese Anforderungen besser geeignet zu sein als die hier verwendete Kombisäule. Die Arbeitsgruppen von Ambroziak et al. und Hess et al. verwendeten ebenfalls eine C18-Säule für den Nachweis von 72, respektive 93 SCRA, mittels LC-MS/MS [76;77]. Für Cathinone verwendeten andere Arbeitsgruppen häufig C18-Säulen [67;78-80], einige auch PFP- bzw. Phenyl-Säulen [66;70;71;81]. Die validierten Substanzen der SCRA, Cathinone und BZD/Z-Drugs besitzen aromatische, halogenierte oder ungesättigte Strukturmerkmale ( $\pi$ -Elektronendonatoren) und können aufgrund der hohen Signalintensitäten mit der C18 PFP-Säule in niedrigen Probenkonzentrationen detektiert werden. Dies zeigten u.a. Versuche mit verschiedenen Säulentypen (C18 PFP-, FC-ODS-, C18 Biphenyl-Säule) in der Methodenentwicklungsphase zum Nachweis von BZD/Z-Drugs [49]. Hinsichtlich dieser einheitlichen Säulenwahl ist ein effizientes Bearbeiten und Messen von mehrfach positiven Proben weitestgehend ohne Änderungen von signifikanten Parametern wie der Extraktionssäule gegeben. Während für die Methoden der SCRA und Cathinone gleiche Eluenten verwendet worden, war es lediglich erforderlich für die BZD/Z-Drugs von ACN auf MeOH als organischen Eluentenanteil zu wechseln.

Kneisel et al. entwickelten eine LC-ESI-MS/MS-Methode zur simultanen Detektion von 30 SCRA im Serum. Mit dieser Methode wurden LODs von 0,1 – 2,0 ng/mL erreicht. [60] In der Arbeit von Angerer wurde eine Methode mit insgesamt 76 Analyten mittels LC-ESI-MS/MS im Serum validiert und dabei wurden LODs von 0,02 – 0,5 ng/mL erzielt [58]. Für die 13 validierten SCRA betrugen die in der vorgestellten Arbeit bestimmten LODs zwischen 0,08 – 0,51 ng/mL und lagen damit in einem vergleichbaren Bereich. Sørensen [66] und Marinetti et al. [67] entwickelten Multitarget-Methoden mit neun bzw. zehn Cathinonen, andere Methoden weisen ein bis vier Cathinone simultan nach [79;81-83]. Die in der vorliegenden Arbeit präsentierte Methode umfasst hingegen sogar 25 Analyte. Die Kalibrierungsbereiche der Vergleichsmethoden [79;81;82] spiegeln den Arbeitsbereich (5 – 500 ng/mL) wieder, welcher auch für die eigene Methode zum Nachweis von Cathinonen gewählt wurde. Die ermittelten

LOD bei Sørensen lagen zwischen 0,5 – 3,0 ng/mL und die LLOQ betrugen etwa 5 ng/mL [66]. Für die 25 Cathinone hingegen wurden LODs von 1,04 - 19,6 ng/mL erzielt. Die Werte für einige Substanzen lagen somit geringfügig höher als die der Vergleichsmethoden [66]. Bei den Werten handelt es sich um rein statistische Werte (z.B. Valistat), die stark von der Wahl und Größe des Kalibrierbereiches abhängen. Unter Berücksichtigung der Signal-Rausch-Verhältnisse resultieren meist deutlich kleinere LOD/LLOQ. Im praktischen Einsatz entsprechender Methoden zum (quantitativen) Nachweis sollte dies berücksichtigt werden. Wenn zudem externe Qualitätskontrollen wie Ringversuche mehrfach erfolgreich bestanden werden (z.B. bei den BZD/Z-Drugs), dann besitzen die Methoden durchaus eine entsprechende Validität.

Mit der Multitarget-Methode zum Nachweis von 39 BZD/Z-Drugs und zahlreicher isotope markierter ISTD wurde eine sehr umfangreiche Methode entwickelt, die neben Hauptwirkstoffen auch Metabolite und Designer-BZD enthält. Eine Studie von El Balkhi et al. [84] untersuchte acht Designer-BZD (Diclazepam, Flubromazepam, Etizolam, Deschloroetizolam, Flubromazolam, Nifoxipam, Meclonazepam und Clonazolam) auf ihre Metabolitenmuster, wofür eine LC-MS/MS-Methode aufgebaut wurde [84]. Pettersson Bergstrand et al. [85] entwickelten eine LC-High-Resolution-MS für den Nachweis von 28 Designer-BZD (u.a. Adinazolam, Clonazolam, Cloniprazepam, Flubromazolam, Flunitrazolam, Ketazolam, Metizolam, Nitrazolam und Pivoxazepam) im Urin. Die erzielten LLOQs lagen zwischen 5 – 50 ng/mL bei einem Messbereich von 5 - 1000 ng/mL. Im Vergleich zur Multitarget-Methode für den Nachweis von 39 BZD/Z-Drugs im Blut wurde der Kalibrierbereich deutlich weiter gefasst (größter Kalibrator in dieser Arbeit 200 ng/mL) und auch größere LLOQs (0,602 - 10,632 ng/mL) ermittelt. [85]

Grundsätzlich sind alle drei validierten Multikomponenten-Methoden auf neue Substanzen erweiterbar (für SCRA: das durch Todesfälle relevant gewordene 5F-CUMYL-PEGACLONE, für BZD: das als Alprazolam gehandelte und durch das Fluoratom im Molekül deutlich potentere Flualprazolam). Als Screening-Verfahren für die enthaltenen Analyte liefern die drei Methoden auf jeden Fall verlässliche qualitative, für viele Analyte sogar quantitative Ergebnisse.

## 5.2 Analyse von 5F-ADB in humanem Probenmaterial bei letal verlaufenden Intoxikationen

Die vier Todesfälle haben gezeigt, dass bereits sehr geringe Konzentrationen von 5F-ADB zu toxischen Wirkungen führen können. Der genaue Wirkungsmechanismus von 5F-ADB im menschlichen Körper, insbesondere hinsichtlich unerwünschter Nebeneffekte/-wirkungen, ist bisher nicht bekannt. Des Weiteren gibt es bis dato keine Erfahrungen oder auch (Langzeit-)

Studien, die mögliche interindividuelle (z.B. Enzym-Polymorphismen) und intraindividuelle Unterschiede (z.B. Substanzgewöhnung) untersucht haben. Die Obduktionsbefunde lassen sich am wahrscheinlichsten mit einem akuten Herzstillstand als Todesursache vereinbaren. Weitere Todesfälle mit 5F-ADB sind in der Literatur beschrieben worden. Im September 2014 starben in Japan zehn Personen durch inhalative Aufnahme von Kräutermischungen [86]. Der Wirkstoff 5F-ADB wurde zunächst im Kräutermaterial und danach in den asservierten Körperflüssigkeiten und Organhomogenaten nachgewiesen. Als direkte Todesursache wurde eine Aspiration von Mageninhalt konstatiert. Dieses soll durch Übelkeit und Erbrechen, ausgelöst durch das Rauchen von 5F-ADB-haltigen Kräutermischungen, im Zustand verminderten Bewusstseins eingetreten sein. Auch fanden sich geringe Konzentrationen, teilweise unterhalb der Nachweisgrenze, im Blut und in den Ausscheidungsorganen aufgrund der kurzen Zeitspanne zwischen Beginn des Rauchens und der letalen Asphyxia. [86] Beim Vergleich der Daten von Hasegawa et al. [86] mit Fall 3 dieser Arbeit werden die Unterschiede zwischen den ermittelten Konzentrationen in Einzelfällen stark verdeutlicht. Ein Rückschluss auf die Überlebenszeit der betroffenen Personen ist nur bedingt möglich (Tab. 30).

**Tab. 30: Vergleich der ermittelten Konzentrationen von 5F-ADB im humanen Asservatmaterial zwischen Fall 3 und dem publizierten Todesfall [86]**

Humanes Asservatmaterial	C <sub>5F-ADB</sub> [ng/ml] Fall 3	C <sub>5F-ADB</sub> [ng/ml] aus Literatur [86]
Oberschenkelvenenblut	2,40	nicht detektierbar
Herzblut	3,65	nicht detektierbar
Gehirn	11,5	1,90
Lunge	263	< 0,5
Leber	0,32	< 0,5
Milz	1,15	1,17
Niere	1,45	< 0,5
Urin	0,36	nicht detektierbar

Die Arbeitsgruppen um Angerer et al. [87] und Krämer et al. [88] berichteten ebenso von Todesfällen mit 5F-ADB. Im analysierten Fall von Angerer (5F-ADB-Konzentration 0,38 ng/mL) und in den drei untersuchten Fällen von Krämer (5F-ADB-Konzentrationen 0,11 – 0,57 ng/mL) wurden vergleichbare Konzentrationen von 5F-ADB gemessen. Bis auf einem Todesfall konnten in allen dargestellten Intoxikationen 5F-ADB-Metabolite nachgewiesen werden. Eine Erklärung für den genauen Wirkungsmechanismus des letalen Verlaufes für

5F-ADB ist auch bei diesen Arbeitsgruppen nicht gefunden worden, da in den vier vorgestellten Fällen jeweils ein Mischkonsum mit mehreren Betäubungsmitteln (u.a. andere SCRA, Fentanyl, Methamphetamin) und Medikamenten (Olanzapin, Doxylamin, Quetiapin) vorlag. Die Ergebnisse der Obduktionen ergaben ebenso unspezifische Befunde (Lungenödem und –emphysem, eine Cyanose der inneren Organe, Aspiration von Mageninhalt). [87;88]

Derartige Intoxikationen werden nicht nur in Deutschland beobachtet, sondern sind ein weltweites Problem, wie beispielsweise Berichte von Arbeitsgruppen aus Europa und den Vereinigten Staaten von Amerika sowie Meldungen an die EMCDDA/UNODC und deren jährliche Reports zeigen [2;7]. Barcelo et al. berichten von fünf akuten Intoxikationen mit 5F-ADB und AM-2201 in Spanien und Italien [57]. Zudem berichten Ivanov et al. [89] von einem Todesfall mit 5F-ADB, bei dem eine Blutkonzentrationen von 3,7 ng/mL nachgewiesen wurde, welche vergleichbar mit dem dritten Todesfall in dieser Arbeit ist. Seither et al. [90] untersuchten nachträglich 36 Todesfälle, in denen Reidy et al. [91] 5F-ADB anhand eines qualitativen Assays nachgewiesen hatten. Die ermittelten Konzentrationen (0,01 – 1,9 ng/mL im Herzblut; 0,01 – 0,37 ng/mL im peripheren Blut) sind ebenfalls mit den vier Fällen dieser Arbeit vergleichbar. Zum möglichen Wirkungsmechanismus der Substanz wurde keine Aussage getroffen. Sie quantifizierten jedoch auch das Ester-Hydrolyse-Produkt, welches in deutlich höheren Konzentrationen als 5F-ADB nachgewiesen wurde und konstatierten diesen Metaboliten als einen geeigneten Marker für einen Gebrauch von 5F-ADB. [90]

Anhand der dargestellten Fälle ist eine Konzentration bzw. ein Konzentrationsbereich, ab wann 5F-ADB komatös-letal wirkt, schwer abzuleiten. Vielmehr wirkte es durch die Nebenwirkungen wie Tachykardie, Krampfanfälle und Herzrasen begünstigend auf das Todesgeschehen.

Des Weiteren berichten Labay et al. [92] von 25 Todesfällen in den USA, in denen SCRA als todesursächlich bzw. als beitragend zum Tod bewertet wurden. Beteiligt sind hier vorrangig die „älteren“ SCRA der ersten und zweiten Generation mit AM-2201 (9 Fälle), XLR-11 (8 Fälle), JWH-018 (6 Fälle), JWH-122 (6 Fälle), JWH-210 (6 Fälle), UR-144 (2 Fälle), JWH-175 und JWH-250 (jeweils 1 Fall). Die meisten dieser Todesfälle wurden dabei als Unfall (14 Fälle) und als natürliche Todesursache (7 Fälle) deklariert. In drei dieser 25 Fälle wurde im Blut nur ein SCRA gefunden und in einem Fall sind drei SCRA im Blut detektiert worden. In allen anderen Todesfällen ergaben die Blutanalysen neben ein oder mehreren SCRA u.a. THC und/oder seine Metabolite, Amphetamin/Methamphetamin, Opiate/Opioide, BZD/Z-Drugs, Antipsychotika und Alkohol. [92].

Im Januar 2019 war ein neuer Todesfall mit einem SCRA im rechtsmedizinischen Institut Rostock aufgetreten. Diesmal wurde das SCRA mit einer  $\gamma$ -Carbolinon-Kernstruktur

5F-CUMYL-PEGACLONE identifiziert. Die Konzentrationen im Oberschenkelvenenblut und im Herzblut betrugen 0,12 ng/mL und 0,22 ng/mL [93]. Außerdem wurden Temazepam, Oxazepam und Alprazolam in therapeutischen Konzentrationen sowie Pregabalin in einer erhöhten Konzentration ermittelt, die jedoch bei regelmäßiger Einnahme des Antiepileptikums üblich ist. Auch hier blieb der Todesmechanismus bisher ungeklärt. In drei weiteren Todesfällen mit dem potenten 5F-CUMYL-PEGACLONE wurden ebenso niedrige Konzentrationen nachgewiesen (im Oberschenkelvenenblut von 0,09 – 0,45 ng/mL). [93] Giorgetti et al. präsentieren weitere drei Fälle, in denen dieses neue SCRA zu letalen Intoxikationen führte [93].

Unter Berücksichtigung der ermittelten Konzentrationen in den aufgezeigten Todesfällen, kann zusammenfassend gesagt werden, dass oftmals mithilfe der sichergestellten Stoffproben bzw. Asservate (Bonginhalte) sich erste Hinweise auf potentiell todesursächliche bzw. todesbegünstigende SCRA ergeben. Daher ist es von immenser Bedeutung alle relevanten Untersuchungsmaterialien zur Analyse und Beurteilung in den Instituten zur Verfügung zu haben.

### 5.3 Analyse von Stoffproben

Auffällig bei den Analysen war zum einen, dass optisch gleiche Verpackungen nicht zwingend identische Wirkstoffe enthielten und zum anderen, dass die Wirkstoffmengen gleicher Substanzen sich in den Päckchen zum Teil deutlich voneinander unterschieden. Fraglich ist auch, ob eine homogene Verteilung der Wirkstoffe in diesen vorlag (in den Analysen durch vorherige Durchmischung der Räuchermischungen versucht zu erzeugen). Dies bestätigt auch eine Studie von Moosmann et al. [94], in der 311 Kräutermischungen auf ihre Inhaltsstoffe sowie intra- und interindividuelle Variationen zwischen den Päckchen untersucht wurden. Die Ergebnisse zeigten, dass es eine hohe Variabilität der Wirkstoffe zwischen den Päckchen (bis zu 33 %) und auch innerhalb eines Päckchens (bis zu 20 %) gab, sodass zwei Joints derselben Kräutermischung signifikant unterschiedliche Wirkstoffgehalte aufweisen können. [94] Somit stellt der Konsum von Räuchermischungen ein potentiell Risiko für den Anwender dar, welches für ihn nicht eindeutig kalkulierbar ist. Besonders Erstanwender sind davon betroffen, da selbst geringste Mengen toxische Wirkungen auslösen können. [95] Zu den häufigsten beobachteten Symptomen einer Spice-Intoxikation gehören Tachykardie, Hypertonie, Agitiertheit/Unruhe, Hyperglykämie, Hypokaliämie, Krampfanfällen, Halluzinationen bis hin zu Psychosen, Übelkeit und Erbrechen [96;97].

Ein weiteres Kriterium für die Wirkstärke und damit auch das Maß an gesundheitlichen Risiken stellt die Rezeptorbindungsaffinität an den CB<sub>1</sub>- und auch an den CB<sub>2</sub>-Rezeptor dar. Trotz ihrer strukturellen Ähnlichkeit (Abb. 2), besitzen die verschiedenen SCRA unterschiedliche Affinitäten zu den Rezeptoren (EC<sub>50</sub>). Im Vergleich zum Phytocannabinoid Δ<sup>9</sup>-THC, welches eine geringe Affinität zum CB<sub>1</sub>- und CB<sub>2</sub>-Rezeptor aufweist, ist das Rezeptorpotential der SCRA (Indole und Indazole) allgemein und besonders der 1-alkyl-1H-indazol-carboxamide mit Valinamid- und *tert*-Leucinamid-Gruppen (Abb. 32) um ein Vielfaches höher. Laut den Studien von Banister et. al [11] aktivieren die getesteten Indole und Indazole alle sowohl die CB<sub>1</sub>- als auch die CB<sub>2</sub>-Rezeptoren mit einem CB<sub>1</sub>-Potential zwischen 0,45 – 36 nM (im Vergleich zu Δ<sup>9</sup>-THC mit 171 nM). Der CB<sub>1</sub>-Rezeptor ist vorrangig für die psychoaktiven Effekte verantwortlich. Mit wenigen Ausnahmen sind alle untersuchten SCRA mit *tert*-Leucinat-Resten potentere CB<sub>1</sub>-Rezeptoragonisten als die SCRA mit Valinat-Resten. 5F-ADB ist 289 mal potenter als Δ<sup>9</sup>-THC und 5F-MDMB-PICA sogar 380 mal potenter am CB<sub>1</sub>-Rezeptor. [9;91]

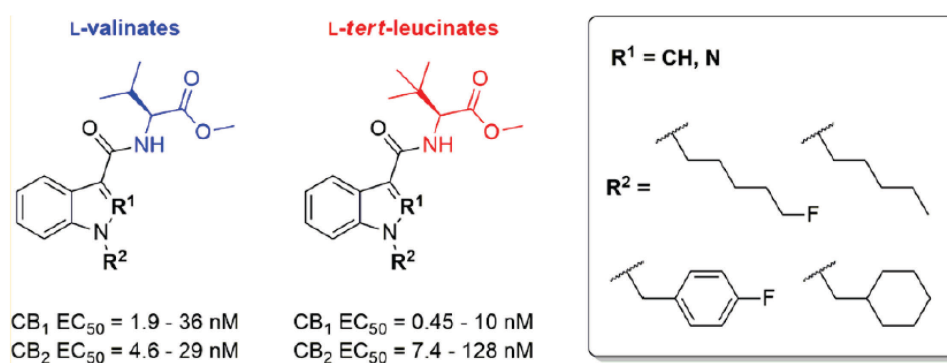


Abb. 32: Struktur und Rezeptorpotential von Valinat- und *tert*-Leucinat-Gruppen [11]

Die potentesten Rezeptor-Agonisten bergen das größte Risikopotential, sodass die These der harmlosen, legalen Räuchermischungen ein weit verbreitetes Missverständnis ist [96-99]. Dieses Risikopotential könnte auch bei den vier thematisierten Todesfällen in dieser Arbeit eine Rolle gespielt haben.

Die USA berichten seit 2011 von Nebenwirkungen bis hin zu Todesfällen mit SCRA. In Tabelle 31 ist ein Auszug aus einer Cluster-Analyse von Trecki et al. [100] aufgezeigt. Der Auszug beinhaltet die in dieser Arbeit identifizierten SCRA. Die Substanzen wurden entweder durch toxikologische Untersuchungen in den Kliniken ermittelt oder aufgrund von Informationen durch Sicherstellungen der lokalen Polizei- und Justizbehörden, die im selben Zeitraum stattfanden. Die zwei am häufigsten identifizierten SCRA waren AB-CHMINACA und AB-PINACA.

**Tab. 31: Cluster-Analyse von Fällen mit gesundheitlichen Risiken, ernsthaften toxischen Wirkungen und/oder Todesfällen mit SCRA in den USA [Auszug,[100]]**

Region	Zeitraum	Anzahl Fälle	Anzahl der Todesfälle	Identifizierte Substanz(en)
Aurora, CO	August 2013	1	1	AB-FUBINACA
Brunswick, GA	August – September 2013	22	0	ADB-PINACA
Denver, CO	August – September 2013	>220	0	ADB-PINACA
Lafayette, LA	April 2014	1	1	AB-CHMINACA
Bay Minette, AL	April 2014	1	1	AB-CHMINACA
Austin, TX	Mai 2014	>20	0	XLR11, AB-FUBINACA
Dallas, TX	Mai 2014	>100	0	XLR11, AB-FUBINACA
Baton Rouge, LA	Mai 2014	1	1	ADB-FUBINACA
Corvallis, OR	Mai 2014	1	1	AB-CHMINACA
Gainesville, FL	Mai – Juni 2014	>29	0	AB-CHMINACA
New Orleans, LA	Juni 2014	1	0	AB-CHMINACA
Irving, TX	Juni 2014	1	0	AB-CHMINACA
Atlantic City, NJ	Juni 2014	2	0	AB-FUBINACA, AB-PINACA
Newport Beach, CA	Juli 2014	1	1	AB-CHMINACA
Shreveport, LA	Juli 2014	1	0	AB-CHMINACA
St. Louis, MO	August 2014	3	0	AB-CHMINACA, AB-PINACA
Manchester, NH	August 2014	>44	0	AM2201 N-(3-chloropentyl)isomer, AB-PINACA, ADB-PINACA, UR-144
Fort Wayne, IN	August 2014	7	0	AB-CHMINACA
Austin, TX	August 2014	1	1	THJ-2201, AB-PINACA
Westland, MI	September 2014	6	0	AB-PINACA
Holdrege, NE	Oktober 2014	1	0	AB-PINACA
Austin, TX	Oktober 2014	1	1	AB-CHMINACA, AB-PINACA,

Region	Zeitraum	Anzahl Fälle	Anzahl der Todesfälle	Identifizierte Substanz(en)
Austin, TX	Oktober 2014	1	1	ADB-PINACA, MAB-CHMINACA
Springfield, MO	November 2014	1	1	AB-CHMINACA
Beaumont, TX	Dezember 2014 – Januar 2015	>62	0	MAB-CHMINACA, AB-PINACA, ADB-PINACA
Boyle, KY	Januar 2015	1	1	AB-CHMINACA
Killeen, TX	Januar 2015	1	1	AB-CHMINACA, AKB48, XLR11
Middletown, CT	Februar 2015	11	0	AB-FUBINACA
Austin, TX	April 2015	4	0	AB-CHMINACA

Hermanns-Clausen et al. [101] fanden in 20 von 44 untersuchten Serumproben von Patienten, die nach offensichtlichem Konsum von SCRA in die Notfallambulanz eingeliefert worden waren, AB-CHMINACA und MDMB-CHMICA. Sie schlussfolgerten, dass mehr akute Intoxikationen mit den „neuen“ SCRA der dritten Generation auftreten als bisher mit den JWH-Analogen berichtet wurde. [101] Dies scheint angesichts der oben genannten Studien von Banister et al. [11] als eine logische Folge und zeigt sich in der präsentierten Arbeit in den analysierten Todesfällen mit 5F-ADB und den nachfolgenden Fällen mit 5F-CUMYL-PEGACLONE (siehe Kapitel 5.2).

Der deutsche Gesetzgeber hat sich dem Auftreten dieser Vielzahl an neuen, bis dahin legalen, Substanzen in Form des NpSG 2016 [23] entgegengestellt. In diesem Gesetz werden nun u.a. das Verabreichen, Handel treiben und Inverkehrbringen ganzer Stoffgruppen verboten und strafverfolgt. Die Stoffgruppen bezogen sich zunächst zum einen auf die vom 2-Phenethylamin abgeleiteten Verbindungen und zum anderen auf Cannabimetika/SCRA (Vgl. 1.2 und 1.3) mit den abgebildeten Kernstrukturen (Indol, Methyldol, Indazol oder Benzimidazol Struktur). Somit haben alle analysierten SCRA aus der Sicherstellung einen illegalen Status.

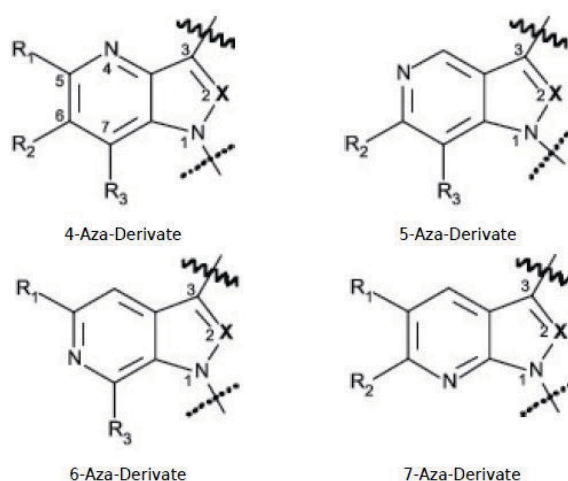
Bereits nach drei Monaten waren in den Headshops und Onlineshops neue Produkte mit „verbesserten Rezepturen“ verfügbar und in der 48. Sitzung des Sachverständigenausschusses im Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte im Mai 2017 standen 5F-CUMYL-P7AICA und CUMYL-PEGACLONE auf der Tagesordnung zur Aufnahme in die Anlage II zu §1 Abs. 1 BtMG [102]. Die Substanzen 5F-CUMYL-P7AICA und CUMYL-PEGACLONE waren zum Zeitpunkt des Erscheinens 2017 noch in keiner



Spektrenbibliothek (z.B. Cayman [52], SWGDrug [53]) vorhanden und konnte mithilfe der Arbeiten von Angerer et al. identifiziert werden [103].

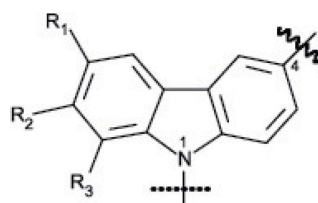
Als logische Konsequenz wurde das NpSG im Juli 2019 hinsichtlich der Strukturerweiterungen für die SCRA und auch weiterer Substanzklassen (NpS) nachgebessert (geändert durch Art. 1 V v. 12.7.2019 I 1083) [40]: Die hinzugekommenen Kernstrukturen der SCRA (Abb. 33) sind:

- 1) 4-, 5-, 6- oder 7-Azaindol-1,3-diyl (X = CH, C-CH<sub>3</sub>, C-F, C-Cl, C-Br und C-I)  
und 4-, 5-, 6- oder 7-Azaindazol-1,3-diyl (X = N)  
(Bindungsort für die Brücke in Position 3, Bindungsort für die Seitenkette in Position 1)



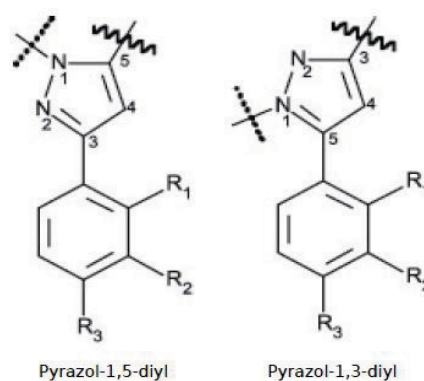
a-d

- 2) Carbazol-1,4-diyl  
(Bindungsort für die Brücke in Position 4, Bindungsort für die Seitenkette in Position 1)



e

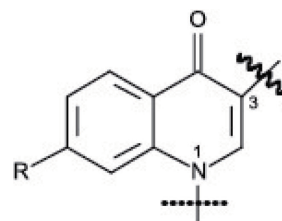
- 3) Pyrazol-1,5-diyl  
(Bindungsort für die Brücke in Position 5, Bindungsort für die Seitenkette in Position 1)  
und Pyrazol-1,3-diyl  
(Bindungsort für die Brücke in Position 3, Bindungsort für die Seitenkette in Position 1)



f-g

4) 4-Chinolon-1,3-diyl

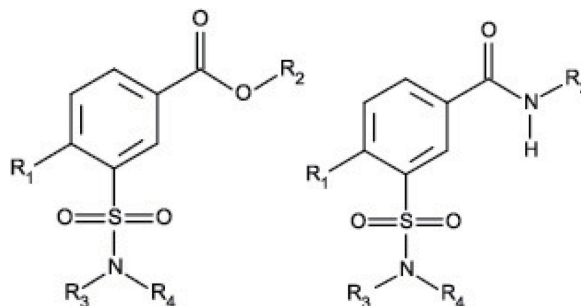
(Bindungsort für die Brücke in Position 3, Bindungsort für die Seitenkette in Position 1)



h

5) 3-Sulfonylamidobenzoate und 3-Sulfonylamidobenzamide

(von 3-Sulfonylamidobenzoesäure abgeleitete Verbindungen mit einer maximalen Molekülmasse von 500)

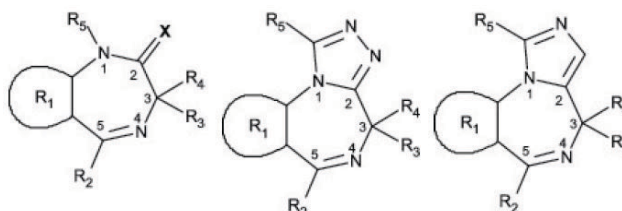


i-j

Abb. 33a-j: Strukturentwicklungen für SCRA, die seit Juli 2019 dem NpSG unterstellt sind [40]

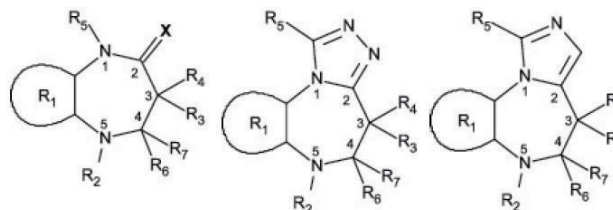
Außerdem wurden die BZD, genauer die 1,4- und 1,5-BZD und ihre Triazol- und Imidazol-Derivate sowie einige speziell substituierte Untergruppen (Loprazolam-, Ketazolam-, Oxazolam- und Chlordiazepoxid-Derivate) mit einer maximalen Molekülmasse von 500 g/mol in das NpSG [40] aufgenommen (Abb. 34):

1) 1,4-BZD



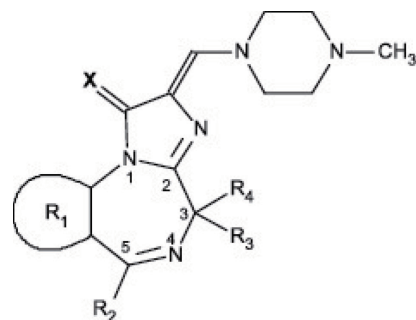
a-c

2) 1,5-BZD



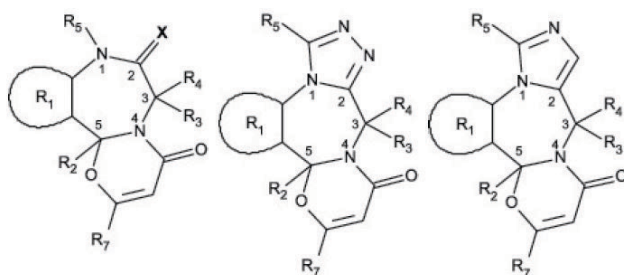
d-f

3) Loprazolam-Abkömmlinge



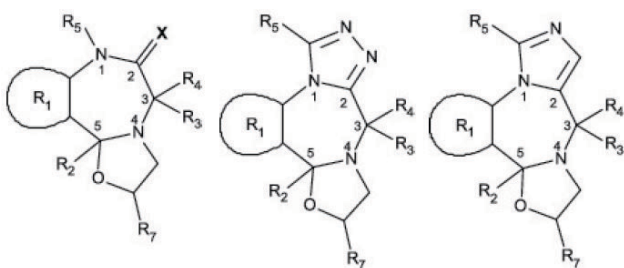
g

4) Ketazolam-Abkömmlinge



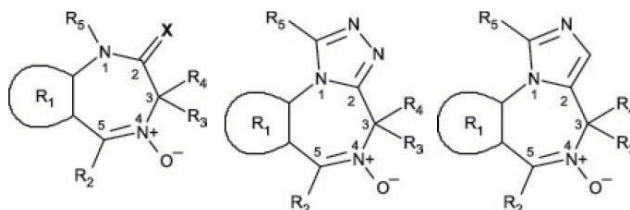
h-j

5) Oxazolam-Abkömmlinge



k-m

6) Chlordiazepoxid-  
Abkömmlinge



n-p

Abb. 34a-p: Kernstrukturen von BZD, die seit Juli 2019 dem NpSG unterstellt sind [40]

In Konsequenz bedeutet dies, dass alle (Designer)-BZD dieser Arbeit nunmehr dem NpSG unterstellt sind.

Zusätzlich in das NpSG aufgenommen wurden auch die vom N-(2-Aminocyclohexyl)amid abgeleiteten Verbindungen (Derivate von U-47700, U-48800 und AH-7921) sowie die  $\Delta^{9,10}$ -Ergolene-Derivate jeweils mit einer maximalen Molekülmasse von 500 g/mol.

Die Stoffgruppe der potenten Tryptamine wurden in das Gesetz mit aufgenommen. Die vom Indol-3-alkylamin abgeleiteten Verbindungen, die eine maximale Molekülmasse von

500 g/mol besitzen, sind nun verboten. Ausgenommen davon sind die Substanz Tryptamin, die natürlich vorkommenden Neurotransmitter Serotonin und Melatonin sowie deren aktive Metaboliten (z. B. 6-Hydroxymelatonin). [40] Somit ist das 5-MeO-MiPT aus den Sicherstellungen ebenso illegal.

In einem Zeitstrahl (Abb. 35) lässt sich der Verlauf vom ersten Auftreten der SCRA und den neuen gesetzlichen Regelungen nachvollziehen.

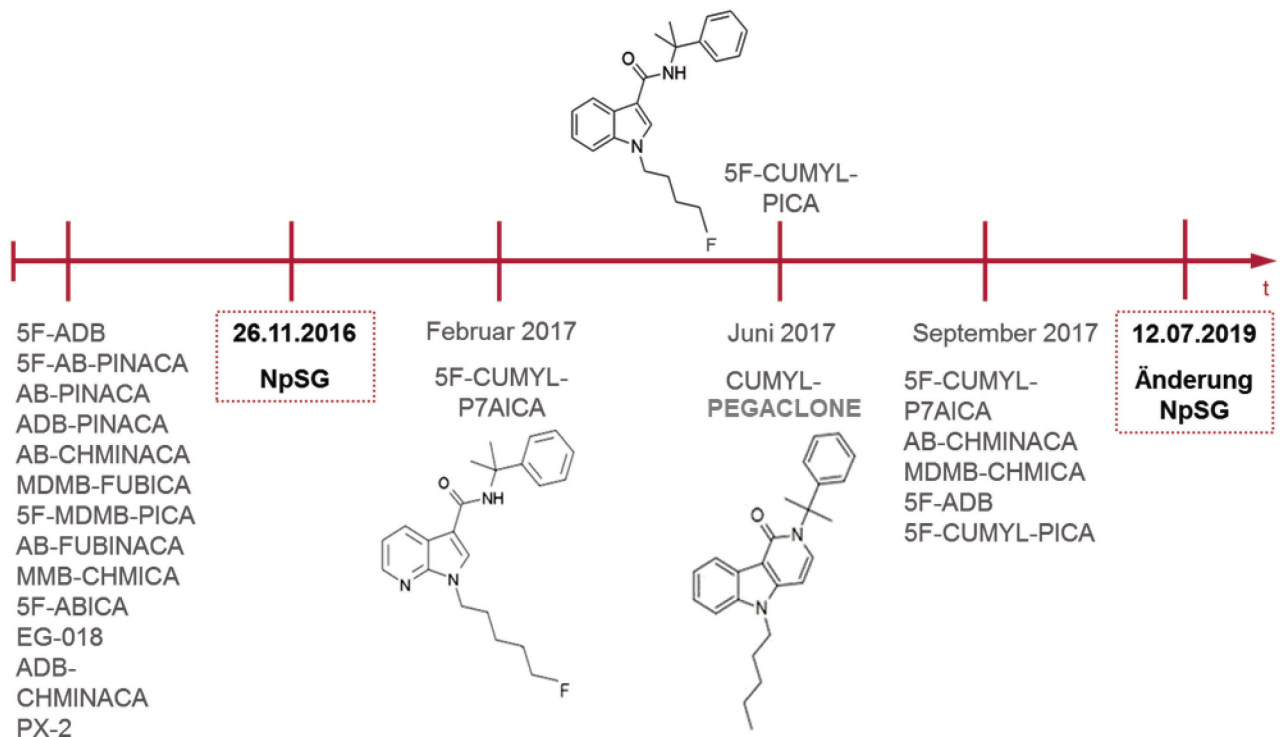


Abb. 35: Zeitraum der im Institut für Rechtsmedizin Rostock analysierten SCRA und der rechtlichen Einordnung

Mit Änderung des NpSG zeigte sich auch ein Rückgang der neu aufgetretenen bzw. gemeldeten Substanzen an die EMCDDA [2]. Wie lange dies anhalten wird und wann sich der Markt wieder darauf eingestellt haben wird, wird sich in den folgenden Monaten zeigen. Des Weiteren sind und sollten alle Nationen auf den Informationsaustausch bezüglich neuer NpS und der Wirkungsweise bzw. Wirkungsstärke dieser Substanzen bestrebt sein. Kongresse wie die „Conference on Novel Psychoactive Substances“, die seit 2013 jährlich stattfindet und u.a. von der EMCDDA, UNODC, WADA unterstützt wird, sind ein wichtiger und wertvoller Beitrag dazu. Solange jedoch noch unterschiedliche Gesetzgebungen beim Umgang mit NpS zwischen den Nationen weltweit und auch innerhalb Europas bestehen, wird sich vor allem die Strafverfolgung als schwierig gestalten, um die Flut an NpS einzudämmen und Intoxikationen bis hin zu Todesfällen zu verhindern.

## 6. Zusammenfassung und Ausblick

Neue psychoaktive Stoffe spielen heutzutage eine weltweit bedeutende Rolle neben den klassischen Betäubungsmitteln. Seit 2009 haben besonders zwei Substanzklassen den Markt erobert: die SCRA und die Cathinone. Neue (Designer-)BZD/Z-Drugs drängen seit 2014 vermehrt auf den Markt. Mit den vier aufgetretenen Todesfällen unter der Einwirkung von 5F-ADB und der Identifizierung von sichergestellten Stoffproben im Untersuchungsgebiet, wurde die Entwicklung und Validierung entsprechender Methoden für die Untersuchungen in biologischen Materialien auf diese drei Substanzklassen als notwendig erachtet.

Bei der Analyse von SCRA, Cathinonen und BZD/Z-Drugs in biologischen Probenmaterialien konnte für alle drei Substanzklassen in dieser Arbeit gezeigt werden, dass die LC-(ESI)-MS/MS ein geeignetes Analysenverfahren darstellt. Dabei zeichnen sich die Methoden durch schnelle und ressourcensparende Probenaufarbeitungen (wenig Probenvolumen, geringer Lösungsmittelverbrauch) aus. Die nach den Richtlinien der GTFCh validierten Methoden enthalten 12 SCRA, 23 Cathinone und 38 BZD/Z-Drugs. Für ein SCRA und zwei Cathinone wurden zusätzlich Teil-Validierungen erzielt. Die LODs und LLOQs liegen für die meisten Analyten in sehr niedrigen Konzentrationsbereichen. Durch den Einsatz von isotope markierten ISTDs kann neben Kalibrierfunktionen auch über ISTD und Responsefaktoren der Analyten quantifiziert werden, was in Einzelanalysen/-fällen eine gute und schnelle Alternative der quantitativen Bestimmung darstellt.

Inwieweit die GC-MS/MS-Analyse bei diesen Analyten geeignet ist, mindestens ähnliche Ergebnisse zu liefern und auch die teilweise niedrigen LOD und LLOQ zu erreichen, bleibt weiteren Forschungsvorhaben vorbehalten.

Zur Identifizierung von unbekannten Stoffproben liefert die Methodenkombination von GC-MS und HPLC-DAD unter der Verwendung aktueller Datenbanken schnelle und meist eindeutige Ergebnisse. Da diese Analysengeräte zur gängigen Ausstattung forensisch arbeitender Labore gehören, sind (auch ohne teure Neuanschaffungen oder externe Begutachtungen) Identifizierungen möglich, zumal oft auf LC-MS/MS, LC-(Q)TOF oder GC-MS/MS zurückgegriffen werden kann. Bei schwierigen, nicht eindeutigen Identifizierungen geben NMR-Analysen die nötigen Hinweise zur Art der Substanz.

Insgesamt 482 Stoffproben in Form von Kräuterpäckchen und „Research Chemicals“ aus polizeilichen Sicherstellungen sind auf ihre Wirkstoffe untersucht worden. Die Wirkstoffgehalte in den Kräuterproben sind zudem quantifiziert worden. In 222 verschiedenen Kräuterpäckchen wurden folgende Wirkstoffe identifiziert: 5F-AB-PINACA (in 27 % der Kräutermischungen), AB-CHMINACA (23 %), ADB-PINACA (16 %), AB-PINACA (11 %), AB-FUBINACA (6 %), MMB-CHMICA (5 %) und 5F-ADB (1 %). Zum ersten Mal

deutschlandweit wurde zudem in 11 % der Kräuterpäckchen 5F-MDMB-PICA detektiert. Für 5F-AB-PINACA und AB-FUBINACA wurde der vorgeschlagene Grenzwert für die „nicht geringe Menge“ für SCRA von 1 g überschritten. Insgesamt konnten in 260 untersuchten Stoffproben (Kräutermaterial, Pulverproben/„Research Chemicals“) 22 verschiedene Substanzen gefunden werden. Mit einem Gesamtanteil von 62,3 % sind die SCRA (vier Substanzen) und die Cathinone (sieben Substanzen) die am häufigsten vertretenen Stoffgruppen gewesen. In 10 % aller Päckchen wurde das Tryptamin 5-MeO-MiPT nachgewiesen. Ferner wurden 5-APDB, zwei Phenethylamine sowie das Sildenafilanalogon III in 4,2 % - 7,3 % der Proben nachgewiesen. Nitracain und Methoxiphenidin wurden in jeweils 3,5 % der Päckchen festgestellt. N-Methyl-p-toluidin und Isosafrolglycol in Kombination mit Vinyl-3,4-methylenedioxybenzoat sind zusammen in 5,4 % des Untersuchungsmaterials nachgewiesen worden. Die Übereinstimmung der Deklaration der verschiedenen NpS-Päckchen mit ihren analysierten Inhaltsstoffen traf in 142 Fällen (54,6 %) überein. Teilweise große Schwankungen konnten bei den Wirkstoffgehalten pro Analyt zwischen den einzelnen Kräutermaterialien festgestellt werden.

In den vier untersuchten Todesfällen ist anhand der Analysen des sichergestellten Spurenmaterials und der Kräutermischungen die Substanz 5F-ADB nachgewiesen worden. In den Todesfällen 1, 2 und 4 lagen die ermittelten Konzentrationen im OSV weit unter 1 ng/mL (0,10 ng/mL; 0,28 ng/mL und ca. 0,02 ng/mL). Im dritten Fall wird eine zehnfach höhere Konzentration von 5F-ADB (2,40 ng/mL) gegenüber den anderen Fällen festgestellt. Die vier Todesfälle haben gezeigt, dass bereits sehr geringe Konzentrationen von 5F-ADB zu toxischen Wirkungen führen können. Der genaue Wirkungsmechanismus ist jedoch bisher nicht bekannt, am wahrscheinlichsten erscheint ein akutes Herzversagen. Des Weiteren wurden im Blut des dritten Todesfalles noch zwei weitere SCRA (ADB-CHMINACA, MDMB-CHMICA) und Medikamente (Tramadol, Flupirtin, Alprazolam) nachgewiesen. In den Todesfällen 1 und 2 sind im Urin zwei andere SCRA (MDMB-CHMICA, 5F-ABICA) nachgewiesen worden und der vierte Todesfall wies zusätzlich eine Blutalkoholkonzentration von 2,22 ‰ auf.

Anhand der Untersuchungen von 5F-ADB in den verschiedenen Körperflüssigkeiten und Organhomogenaten des dritten Todesfalles konnten Aussagen zur Aufnahme, Verteilung der Substanz und deren Hauptmetaboliten getroffen werden. Die hohe Konzentration in der Lungenablaufflüssigkeit weist eindeutig die inhalative Aufnahme von 5F-ADB nach. Die Betrachtung der geringen Konzentration von 5F-ADB und den prognostizierten Hauptmetaboliten in den Eliminationsorganen lassen den Schluss zu, dass der Tod relativ zeitnah nach dem Rauchen der Kräutermischung eingetreten ist.

Weitere Todesfälle mit 5F-ADB sind bereits in anderen deutschen Regionen und Ländern beschrieben worden, zum Teil in einem ähnlichen Zeitraum, wie die im Rostocker Institut

aufgetretenen Fälle. Intoxikationen und auch Todesfälle mit anderen SCRA, wie beispielsweise mit 5F-Cumyl-PEGACLONE, können aufgrund der für den Konsumenten nicht vorhersagbaren Wirkstoffe und Wirkstärken auch weiterhin nicht ausgeschlossen werden.

## 7. Literaturverzeichnis

1. Evans-Brown M, Sedefov R. Responding to New Psychoactive Substances in the European Union: Early Warning, Risk Assessment, and Control Measures. *Handb Exp Pharmacol* 2018; 252:3-49.
2. European Monitoring Centre for Drugs and Drugs Addictions (EMCDDA). *Europäischer Drogenbericht; Trends und Entwicklungen 2019*. letzter Zugriff: 18-11-2019.
3. Riches JR, Read RW, Black RM, Cooper NJ, Timperley CM. Analysis of Clothing and Urine from Moscow Theatre Siege Casualties Reveals Carfentanil and Remifentanil Use. *J Anal Toxicol* 2012; 36(9):647-656.
4. Schifano F, Orsolini L, Duccio Papanti G, Corkery JM. Novel psychoactive substances of interest for psychiatry. *World Psychiatry* 2015; 14(1):15-26.
5. Moosmann B, King LA, Auwärter V. Designer BZD/Z-Drugs: A new challenge. *World Psychiatry* 2015; 14(2):248.
6. Zawilska JB, Wojcieszak J. An expanding world of new psychoactive substances—designer benzodiazepines. *NeuroToxicology* 2019; 73:8-16
7. European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addictions und Europol. *EU Drug Markets Report 2019*. letzter Zugriff: 27-11-2019.
8. Hollister LE. Health aspects of cannabis. *Pharmacol Rev* 1986; 38(1):1
9. Wilkinson ST, D'Souza DC. Problems with the medicalization of marijuana. *JAMA* 2014; 311(23):2377-2378.
10. European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addictions. *Understanding the "Spice" phenomenon, EMCDDA Thematic Paper. 2009*. Luxemburg, Publications Office of the European Union. letzter Zugriff: 18-11-2019
11. Banister SD, Longworth M, Kevin R, Sachdev S, Santiago M, Stuart J et al. Pharmacology of Valinate and tert-Leucinate Synthetic Cannabinoids 5F-AMBICA, 5F-AMB, 5F-ADB, AMB-FUBINACA, MDMB-FUBINACA, MDMB-CHMICA, and Their Analogues. *ACS Chem Neurosci* 2016; 7(9):1241-1254.
12. Smith JP, Sutcliffe OB, Banks CE. An overview of recent developments in the analytical detection of new psychoactive substances (NPSs). *Analyst* 2015; 140(15):4932-4948.
13. Auwärter V, Dresen S, Weinmann W, Muller M, Putz M, Ferreiros N. 'Spice' and other herbal blends: harmless incense or cannabinoid designer drugs? *J Mass Spectrom* 2009; 44(5):832-837.
14. van Amsterdam J, Brunt T, van den Brink W. The adverse health effects of synthetic cannabinoids with emphasis on psychosis-like effects. *J Psychopharmacol* 2015; 29(3):254-263.
15. Bossong MG, Niesink RJ. Adolescent brain maturation, the endogenous cannabinoid system and the neurobiology of cannabis-induced schizophrenia. *Prog Neurobiol* 2010; 92(3):370-385.



16. Kikura-Hanajiri R, Kawamura NU, Goda Y. Changes in the prevalence of new psychoactive substances before and after the introduction of the generic scheduling of synthetic cannabinoids in Japan. *Drug Test Anal* 2014; 6(7-8):832-839.
17. Mackie K. Cannabinoid receptors as therapeutic targets. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2006; 46:101-122.
18. Cabral GA, Griffin-Thomas L. Cannabinoids as therapeutic agents for ablating neuroinflammatory disease. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets* 2008; 8(3):159-172.
19. Hess C, Schoeder CT, Pillaiyar T, Madea B, M++ller CE. Pharmacological evaluation of synthetic cannabinoids identified as constituents of spice. *Forensic Toxicol* 2016; 34(2):329-343.
20. Wiley JL, Marusich JA, Lefever TW, Antonazzo KR, Wallgren MT, Cortes RA et al. AB-CHMINACA, AB-PINACA, and FUBIMINA: Affinity and Potency of Novel Synthetic Cannabinoids in Producing  $\Delta^9$ -Tetrahydrocannabinol-Like Effects in Mice. *J Pharmacol Exp Ther* 2015; 354(3):328.
21. Spaderna M, Addy PH, D'Souza DC. Spicing things up: synthetic cannabinoids. *Psychopharmacology (Berl)* 2013; 2013/07/09(4):525-540.
22. Bundesgesetzblatt. Einunddreißigste Verordnung zur Änderung betäubungsmittelrechtlicher Vorschriften. Jahrgang 2016 Teil I Nr. 26. 2016. letzter Zugriff 11-11-2017.
23. Bundesgesetzblatt. Gesetz zur Bekämpfung der Verbreitung neuer psychoaktiver Stoffe. Jahrgang 2016 Teil I Nr. 55. 25.11.2016. letzter Zugriff 11-11-2017.
24. Legislation Government UK. Psychoactive Substances Act 2016. The National Archives. 2016. letzter Zugriff 11-11-2017.
25. Eidgenössisches Departement des Innern. Verordnung des EDI über die Verzeichnisse der Betäubungsmittel, psychotropen Stoffe, Vorläuferstoffe und Hilfschemikalien. 2011. letzter Zugriff 11-11-2017.
26. Bundeskanzleramt Österreich. Bundesgesetz über den Schutz vor Gesundheitsgefahren im Zusammenhang mit Neuen Psychoaktiven Substanzen (Neue-Psychoaktive-Substanzen-Gesetz, NPSG). Rechtsinformationssystem. 2012. letzter Zugriff 11-11-2017.
27. Bundesministerium der Justiz und für Verbraucherschutz, Bundesamt für Justiz. Gesetz über den Verkehr mit Betäubungsmitteln (Betäubungsmittelgesetz - BtMG). 1981. letzter Zugriff 11-11-2017
28. Bork WR, Dahlenburg R, Fritsch R, Gimbel M, Jacobsen-Bauer A, Mahler H et al. Herleitung von Grenzwerten der „nicht geringen Menge“ im Sinne des BtMG bei „neuen psychoaktiven Stoffen“. *Toxichem Krimtech* 2017; 84(1):5-30.
29. Bild Catha edulis. 29-8-2019. [https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/5/56/Catha\\_edulis.jpg](https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/5/56/Catha_edulis.jpg). letzter Zugriff 3-12-2019
30. Bork W-R, Dahlenburg R, Gimbel M, Jacobsen-Bauer A, Mahler H, Zörntlein S. Herleitung von Grenzwerten der „nicht geringen Menge“ im Sinne des BtMG (Teil III). *Toxichem Krimtech* 2019; 86(1):5-91

31. Karila L, Megarbane B, Cottencin O, Lejoyeux M. Synthetic cathinones: a new public health problem. *Curr Neuropsychopharmacol* 2015; 13(1):12-20.
32. Krikorian AD. Kat and its use: an historical perspective. *J Ethnopharmacol* 1984; 12(2):115-178.
33. Simmler LD, Buser TA, Donzelli M, Schramm Y, Dieu LH, Huwyler J et al. Pharmacological characterization of designer cathinones in vitro. *Br J Pharmacol* 2013; 168(2):458-470.
34. Prosser JM, Nelson LS. The Toxicology of Bath Salts: A Review of Synthetic Cathinones. *J Med Toxicol* 2012; 8(1):33-42.
35. Bundesgesetzblatt. Sechszwanzigste Verordnung zur Änderung betäubungsmittelrechtlicher Vorschriften. Bundesgesetzblatt Jahrgang 2012 Teil I Nr. 35. 2012. letzter Zugriff 25-11-2017.
36. Herdegen T. Hypnotika und Anxiolytika. In: Herdegen T, Böhm R, Culman J, Gohlke P, Luippold G, Wätzig V, editors. *Kurzlehrbuch Pharmakologie und Toxikologie*. 3. Auflage ed. Stuttgart: Georg Thieme Verlag KG; 2014. p. 390-400.
37. Graefe K.H. Klinische Pharmakologie einzelner Organsysteme und wichtiger Indikationsgebiete - Zentrales Nervensystem. In: Graefe KH, Lutz W, Bönisch H, editors. *Duale Reihe, Pharmakologie und Toxikologie*. Stuttgart: Georg Thieme Verlag KG; 2011. p. 265-286.
38. Rote Liste® Service GmbH. ROTE LISTE® 2019; 2019
39. Bundesgesetzblatt. Dreißigste Verordnung zur Änderung betäubungsmittelrechtlicher Vorschriften. Jahrgang 2015 Teil I Nr. 45. 2015. letzter Zugriff 11-11-2017.
40. Bundesgesetzblatt. Verordnung zur Änderung der Anlage des Neue-psychoaktive-Stoffe-Gesetzes und von Anlagen des Betäubungsmittelgesetzes. Jahrgang 2019 Teil I Nr. 27. 2019. letzter Zugriff 12-01-2020.
41. Budzikiewicz H, Schäfer M. *Massenspektrometrie - Eine Einführung*. 6. Auflage ed. Weinheim: Wiley-VCH; 2012
42. Gross JH. *Massenspektrometrie - Ein Lehrbuch*. Berlin/ Heidelberg: Springer Verlag; 2013.
43. Institut für Rechtsmedizin Rostock. Sektionsgutachten zum Todesfall 1. 2016.
44. Rentsch D, Auwärter V, Manhart J, Kegler R, Büttner A. Spice up your life!. Posterbeitrag auf der 25. Frühjahrstagung der Deutschen Gesellschaft für Rechtsmedizin-Region Nord. 2016.
45. Kegler R, Lehmann C, Manhart J, Büttner A, Rentsch D. Identification and quantification of synthetic cannabinoids in herbal mixtures. Posterbeitrag auf der 20th Nordic Conference on Forensic Medicine and 4th Annual Meeting of the Nordic Association of Forensic Toxicologists. 2018.
46. Institut für Rechtsmedizin Rostock. Sektionsgutachten zum Todesfall 2. 2016.
47. Institut für Rechtsmedizin Rostock. Sektionsgutachten zum Todesfall 3. 2016.

48. Institut für Rechtsmedizin Rostock. Sektionsgutachten zum Todesfall 4. 2018.
49. Möller F. Aufbau einer LC-MS/MS-Methode zum quantitativen Nachweis von BZD/Z-Drugs aus biologischen Matrices [ angefertigt am Institut für Rechtsmedizin der Universität Rostock; 2017.
50. Peters FT, Hartung M, Herbold M, Schmitt G, Daldrup T, Mußhoff F. Anhang B zu den Richtlinien der GTFCh zur Qualitätssicherung bei forensisch-toxikologischen Untersuchungen; Anforderungen an die Validierung von Analysemethoden. Toxichem Krimtech 2009; 76 (3):185-208.
51. Matuszewski BK, Constanzer ML, Chavez-Eng CM. Strategies for the assessment of matrix effect in quantitative bioanalytical methods based on HPLC-MS/MS. Anal Chem 2003; 75(13):3019-3030.
52. Cayman Spectral Library in Agilent MSD Chemstation formate [Version 31.10.2016.]
53. SWGDRUG Mass Spectral Library in Agilent formate [Version 3.1.2016]
54. Lehmann C, Kegler R, Angerer V, Büttner A, Rentsch D. Identification and quantification of synthetic cannabinoids in herbal mixtures. Posterbeitrag auf der 96. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Rechtsmedizin und X. ISALM. 2017.
55. Lehmann C, Kegler R, Büttner A, Rentsch D. A potpourri of new psychoactive substances. Posterbeitrag auf der 96. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Rechtsmedizin und X. ISALM. 2017.
56. Lehmann C. Health hazards after consuming the synthetic cannabinoid 5F-ADB. Vortrag auf der Conference on Novel Psychoactive Substances. 2019
57. Barceló B, Pichini S, López-Corominas V, Gomila I, Yates C, Busardò FP et al. Acute intoxication caused by synthetic cannabinoids 5F-ADB and MMB-2201: A case series. Forensic Sci Int 2017; 273:e10-e14
58. Angerer V. Neue psychoaktive Substanzen in der forensischen Toxikologie Synthetische Cannabinoide-Eine unendliche Geschichte?. Fakultät für Chemie und Pharmazie der Albert-Ludwigs-Universität Freiburg im Breisgau; 2017.
59. Zawilska JB, Wojcieszak J. An expanding world of new psychoactive substances-designer benzodiazepines. NeuroToxicology 2019; 73:8-16.
60. Kneisel S, Auwarter V. Analysis of 30 synthetic cannabinoids in serum by liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry after liquid-liquid extraction. J Mass Spectrom 2012; 47(7):825-835.
61. Teske J, Weller JP, Fieguth A, Rothamel T, Schulz Y, Troger HD. Sensitive and rapid quantification of the cannabinoid receptor agonist naphthalen-1-yl-(1-pentylindol-3-yl)methanone (JWH-018) in human serum by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci 2010; 878(27):2659-2663.
62. Kacinko SL, Xu A, Homan JW, McMullin MM, Warrington DM, Logan BK. Development and validation of a liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for the identification and quantification of JWH-018, JWH-073, JWH-019, and JWH-250 in human whole blood. J Anal Toxicol 2011; 35(7):386-393.

63. Yeakel JK, Logan BK. Blood synthetic cannabinoid concentrations in cases of suspected impaired driving. *J Anal Toxicol* 2013; 37(8):547-551.
64. Dresen S, Kneisel S, Weinmann W, Zimmermann R, Auwarter V. Development and validation of a liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for the quantitation of synthetic cannabinoids of the aminoalkylindole type and methanandamide in serum and its application to forensic samples. *J Mass Spectrom* 2011; 46(2):163-171.
65. Shanks KG, Dahn T, Terrell AR. Detection of JWH-018 and JWH-073 by UPLC-MS-MS in postmortem whole blood casework. *J Anal Toxicol* 2012; 36(3):145-152.
66. Sørensen LK. Determination of cathinones and related ephedrine in forensic whole-blood samples by liquid-chromatography-electrospray tandem mass spectrometry. *J Chromatography B* 2011; 879(11):727-736.
67. Marinetti LJ, Antonides HM. Analysis of Synthetic Cathinones Commonly Found in Bath Salts in Human Performance and Postmortem Toxicology: Method Development, Drug Distribution and Interpretation of Results. *J Anal Toxicol* 2013; 37(3):135-146.
68. Wurita A, Hasegawa K, Minakata K, Gonmori K, Nozawa H, Yamagishi I et al. Postmortem distribution of  $\alpha$ -pyrrolidinobutylphenone in body fluids and solid tissues of a human cadaver. *Leg Med* 2014; 16(5):241-246.
69. Usui K, Aramaki T, Hashiyada M, Hayashizaki Y, Funayama M. Quantitative analysis of 3,4-dimethylmethcathinone in blood and urine by liquid chromatography–tandem mass spectrometry in a fatal case. *Leg Med* 2014; 16(4):222-226.
70. Rojek S, Klys M, Strona M, Maciów M, ulla K. "Legal highs"-Toxicity in the clinical and medico-legal aspect as exemplified by suicide with bk-MBDB administration. *Forensic Sci Int* 2012; 222(1):e1-e6.
71. Johnson RD, Botch-Jones SR. The Stability of Four Designer Drugs: MDPV, Mephedrone, BZP and TFMPP in Three Biological Matrices under Various Storage Conditions. *J Anal Toxicol* 2013; 37(2):51-55.
72. Nakamura M, Ohmori T, Itoh Y, Terashita M, Hirano K. Simultaneous determination of BZD/Z-Drugs and their metabolites in human serum by liquid chromatography–tandem mass spectrometry using a high-resolution octadecyl silica column compatible with aqueous compounds. *Biomed Chromatogr* 2009; 23(4):357-364.
73. Montenarh D, Hopf M, Maurer HH, Schmidt P, Ewald AH. Detection and quantification of BZD/Z-Drugs and Z-drugs in human whole blood, plasma, and serum samples as part of a comprehensive multi-analyte LC-MS/MS approach. *Anal Bioanal Chem* 2014; 406(3):803-818.
74. Dussy FE, Hamberg C, Briellmann TA. Quantification of BZD/Z-Drugs in whole blood and serum. *Int J Legal Med* 2006; 120(6):323-330.
75. Demme U, Becker J, Bussemas H, Daldrup T, Erdmann F, Erkens M et al. Systematic evaluation of 1-chlorobutane for liquid-liquid extraction of drugs. Posterbeitrag auf der TIAFT 2005.

76. Ambroziak K, Adamowicz P. Simple screening procedure for 72 synthetic cannabinoids in whole blood by liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Forensic Toxicol* 2018; 36(2):280-290.
77. Hess C, Murach J, Krueger L, Scharrenbroch L, Unger M, Madea B et al. Simultaneous detection of 93 synthetic cannabinoids by liquid chromatography–tandem mass spectrometry and retrospective application to real forensic samples. *Drug Test Anal* 2017; 9(5):721-733.
78. Gil D, Adamowicz P, Skulska A, Tokarczyk B, Stanaszek R. Analysis of 4-MEC in biological and non-biological material–Three case reports. *Forensic Sci Int* 2013; 228(1):e11-e15.
79. Adamowicz P, Tokarczyk B, Stanaszek R, Slopianka M. Fatal Mephedrone Intoxication–A Case Report. *J Anal Toxicol* 2012; 37(1):37-42.
80. Cosbey SH, Peters KL, Quinn A, Bentley A. Mephedrone (Methylmethcathinone) in Toxicology Casework: A Northern Ireland Perspective. *J Anal Toxicol* 2013; 37(2):74-82.
81. Kriikku P, Wilhelm L, Schwarz O, Rintatalo J. New designer drug of abuse: 3,4-Methylenedioxypyrovalerone (MDPV). Findings from apprehended drivers in Finland. *Forensic Sci Int* 2011; 210(1):195-200.
82. Hasegawa K, Wurita A, Minakata K, Gonmori K, Nozawa H, Yamagishi I et al. Identification and quantitation of a new cathinone designer drug PV9 in an "aroma liquid" product, antemortem whole blood and urine specimens, and a postmortem whole blood specimen in a fatal poisoning case. *Forensic Toxicol* 2014; 32(2):243-250.
83. Jankovics P, Váradi A, Tölgyesi L, Lohner S, Németh-Palotás J, Köszegi-Szalai H. Identification and characterization of the new designer drug 4'-methylethcathinone (4-MEC) and elaboration of a novel liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) screening method for seven different methcathinone analogs. *Forensic Sci Int* 2011; 210(1):213-220.
84. El Balkhi S, Chaslot M, Picard N, Dulaurent S, Delage M, Mathieu O et al. Characterization and identification of eight designer benzodiazepine metabolites by incubation with human liver microsomes and analysis by a triple quadrupole mass spectrometer. *Int J Legal Med* 2017; 131(4):979-988.
85. Pettersson Bergstrand M, Beck O, Helander A. Urine analysis of 28 designer benzodiazepines by liquid chromatography-high-resolution mass spectrometry. *Clin Mass Spectrom* 2018; 10:25-32.
86. Hasegawa K, Wurita A, Minakata K, Gonmori K, Yamagishi I, Nozawa H et al. Identification and quantitation of 5-fluoro-ADB, one of the most dangerous synthetic cannabinoids, in the stomach contents and solid tissues of a human cadaver and in some herbal products. *Forensic Toxicol* 2015; 33(1):112-121.
87. Angerer V, Jacobi S, Franz F, Auwärter V, Pietsch J. Three fatalities associated with the synthetic cannabinoids 5F-ADB, 5F-PB-22, and AB-CHMINACA. *Forensic Sci Int* 2017; 281:e9-e15.
88. Kraemer M, Fels H, Dame T, Musshoff F, Halter S, Mogler L et al. Mono-/polyintoxication with 5F-ADB: A case series. *Forensic Sci Int* 2019; 301:e29-e37.

89. Ivanov ID, Stoykova S, Ivanova E, Vlahova A, Burdzhiev N, Pantcheva I et al. A case of 5F-ADB / FUB-AMB abuse: Drug-induced or drug-related death? *Forensic Sci Int* 2019; 297:372-377.
90. Seither JZ, Reidy LJ, Boland DM. Identification and Quantification of 5-Fluoro ADB and the 5-Fluoro ADB Ester Hydrolysis Metabolite in Postmortem Blood Samples by LC-MS/MS. *J Anal Toxicol* 2020; 44(2):133-139.
91. Reidy L, Seither J, Boland D. Identification of Synthetic Cannabinoid 5-fluoro-ADB in Human Performance and Postmortem Samples: A Case Series. *J Forensic Toxicol Pharmacol* 2018; 7:2.
92. Labay LM, Caruso JL, Gilson TP, Phipps RJ, Knight LD, Lemos NP et al. Synthetic cannabinoid drug use as a cause or contributory cause of death. *Forensic Sci Int* 2016; 260:31-39
93. Giorgetti A, Mogler L, Halter S, Haschimi B, Alt A, Rentsch D et al. Four cases of death involving the novel synthetic cannabinoid 5F-Cumyl-PEGACLONE. *Forensic Toxicol* 2020;38:314-326
94. Moosmann B, Angerer V, Auwärter V. Inhomogeneities in herbal mixtures: a serious risk for consumers. *Forensic Toxicol* 2015; 33(1):54-60.
95. Hermanns-Clausen M, Kneisel S, Hutter M, Szabo B, Auwärter V. Acute intoxication by synthetic cannabinoids--four case reports. *Drug Test Anal* 2013; 5(9-10):790-794.
96. Papanti D, Schifano F, Botteon G, Bertossi F, Mannix J, Vidoni D et al. "Spiceophrenia": a systematic overview of "spice"-related psychopathological issues and a case report. *Hum Psychopharmacol* 2013; 28(4):379-389.
97. Rech MA, Donahey E, Cappiello Dziedzic JM, Oh L, Greenhalgh E. New drugs of abuse. *Pharmacotherapy* 2015; 35(2):189-197.
98. Adams AJ, Banister SD, Irizarry L, Trecki J, Schwartz M, Gerona R. "Zombie" Outbreak Caused by the Synthetic Cannabinoid AMB-FUBINACA in New York. *N Engl J Med* 2017; 376(3):235-242.
99. Seely KA, Lapoint J, Moran JH, Fattore L. Spice drugs are more than harmless herbal blends: a review of the pharmacology and toxicology of synthetic cannabinoids. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2012; 39(2):234-243.
100. Trecki J, Gerona RR, Schwartz MD. Synthetic Cannabinoid-Related Illnesses and Deaths. *N Engl J Med* 2015; 373(2):103-107.
101. Hermanns-Clausen M, Müller D, Kithinji J, Angerer V, Franz F, Eyer F et al. Acute side effects after consumption of the new synthetic cannabinoids AB-CHMINACA and MDMB-CHMICA. *Clin Toxicol (Phila)* 2017;1-8.
102. Ausschuss unabhängiger Sachverständiger, Bundesopiumstelle des Bundesinstituts für Arzneimittel und Medizinprodukte (BfArM). Sachverständigenausschuss für Betäubungsmittel nach § 1 Abs. 2 BtMG und Neue-psychoaktive-Stoffe nach § 7 NpSG. 48. Sitzung des Sachverständigenausschusses. 8-5-2017. 25-11-2017.
103. Angerer V, Mogler L, Steitz JP, Bisel P, Hess C, Schoeder CT et al. Structural characterization and pharmacological evaluation of the new synthetic cannabinoid CUMYL-PEGACLONE. *Drug Test Anal* 2018; 10(3):597-603.

## 8. Anhang

### 8.1 Standardsubstanzen und deren Hersteller/Herkunft

Die verwendeten Standardsubstanzen für den Nachweis von SCRA in Serumproben mittels LC-ESI-MS/MS sind im Abschnitt 3.2 aufgeführt. Nachfolgend sind die Standardsubstanzen für die LC-ESI-MS/MS-Methoden zum quantitativen Nachweis von Cathinonen (Tab. 32) und BZD (Tab. 33) im Serum aufgelistet.

Tab. 32: Synthetische Cathinone und deren Bezugsquellen

Substanz	Hersteller	
2-DPMP	Cerilliant®	Round Rock, USA
4-CEC	als Pulver aus behördlicher Sicherstellung*	
4-Flourephehdin	Cerilliant®	Round Rock, USA
Bupropion	Cerilliant®	Round Rock, USA
Butylon	Cerilliant®	Round Rock, USA
Cathinon	Lipomed AG	Arlesheim, Schweiz
Ethylon	Cerilliant®	Round Rock, USA
Eutylon	Cerilliant®	Round Rock, USA
Flephedron	Lipomed AG	Arlesheim, Schweiz
HEX-EN	als Pulver aus behördlicher Sicherstellung*	
Hydroxybupropion	Cerilliant®	Round Rock, USA
MDPBP	Cerilliant®	Round Rock, USA
MDPPP	Cerilliant®	Round Rock, USA
MDPV	Cerilliant®	Round Rock, USA
Mephedron (4-MMC)	Lipomed AG	Arlesheim, Schweiz
Methcathinon	Lipomed AG	Arlesheim, Schweiz
Methedron	Cerilliant®	Round Rock, USA
Methylon	Lipomed AG	Arlesheim, Schweiz
Mexedron	als Pulver aus behördlicher Sicherstellung*	
Naphyron	Cerilliant®	Round Rock, USA
N-Ethylpentylon	als Pulver aus behördlicher Sicherstellung*	
Pentedron	Cerilliant®	Round Rock, USA
Pentylon	Cerilliant®	Round Rock, USA
PV-9	als Pulver aus behördlicher Sicherstellung*	
TH-PVP	als Pulver aus behördlicher Sicherstellung*	
Deuterierte Substanzanaloga (ISTD)		
4-Methylephedrin-d <sub>3</sub>	Cerilliant®	Round Rock, USA
4-MMC-d <sub>3</sub>	Lipomed AG	Arlesheim, Schweiz
Bupropion-d <sub>9</sub>	Cerilliant®	Round Rock, USA

<b>Butylon-d<sub>3</sub></b>	Cerilliant®	Round Rock, USA
<b>Diethylpropion-d<sub>10</sub></b>	Cerilliant®	Round Rock, USA
<b>Ethylon-d<sub>5</sub></b>	Cerilliant®	Round Rock, USA
<b>Eutylon-d<sub>5</sub></b>	Cerilliant®	Round Rock, USA
<b>Hydroxybupropion-d<sub>6</sub></b>	Cerilliant®	Round Rock, USA
<b>MDPBP-d<sub>8</sub></b>	Cerilliant®	Round Rock, USA
<b>MDPPP-d<sub>8</sub></b>	Cerilliant®	Round Rock, USA
<b>MDPV-d<sub>8</sub></b>	Cerilliant®	Round Rock, USA
<b>Methcathinon-d<sub>3</sub></b>	Cerilliant®	Round Rock, USA
<b>Methylon-d<sub>3</sub></b>	Lipomed AG	Arlesheim, Schweiz
<b>Naphyron-d<sub>5</sub></b>	Cerilliant®	Round Rock, USA
<b>Pentylon-d<sub>3</sub></b>	Cerilliant®	Round Rock, USA

\*Die Pulver stammen aus behördlichen Sicherstellungen (vorrangig von der Polizei Mecklenburg-Vorpommern). Die Identitäten und Reinheitsgrade wurden mittels GC-MS und NMR überprüft.

Tab. 33: BZD/Z-Drugs und deren Bezugsquellen

<b>Substanz</b>	<b>Hersteller</b>	
<b>3-Hydroxyflunitrazepam</b>	Lipomed AG	Arlesheim, Schweiz
<b>3-Hydroxyphenazepam</b>	Cerilliant®	Round Rock, USA
<b>7-Aminoflunitrazepam</b>	Cerilliant®	Round Rock, USA
<b>Adinazolam</b>	Chiron AS	Trondheim, Norwegen
<b>Alprazolam</b>	Cerilliant®	Round Rock, USA
<b>Bromazepam</b>	Cerilliant®	Round Rock, USA
<b>Clobazam</b>	Cerilliant®	Round Rock, USA
<b>Clonazepam</b>	Cerilliant®	Round Rock, USA
<b>Clonazolam</b>	Chiron AS	Trondheim, Norwegen
<b>Cloniprazepam</b>	Chiron AS	Trondheim, Norwegen
<b>Delorazepam</b>	LGC	Luckenwalde, Deutschland
<b>Desalkylflurazepam</b>	Chiron AS	Trondheim, Norwegen
<b>Diazepam</b>	Cerilliant®	Round Rock, USA
<b>Etizolam</b>	Cerilliant®	Round Rock, USA
<b>Flubromazolam</b>	Chiron AS	Trondheim, Norwegen
<b>Flunitrazepam</b>	Cerilliant®	Round Rock, USA
<b>Flunitrazolam</b>	Chiron AS	Trondheim, Norwegen
<b>Ketazolam</b>	Chiron AS	Trondheim, Norwegen
<b>Lorazepam</b>	Cerilliant®	Round Rock, USA
<b>Lormetazepam</b>	Cerilliant®	Round Rock, USA
<b>Meclonazepam</b>	Chiron AS	Trondheim, Norwegen
<b>Metizolam</b>	Chiron AS	Trondheim, Norwegen
<b>Midazolam</b>	Cerilliant®	Round Rock, USA

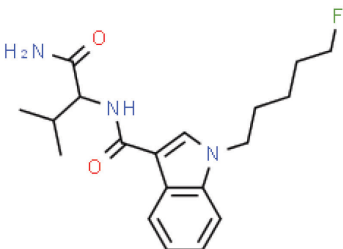
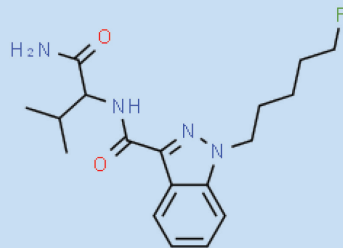
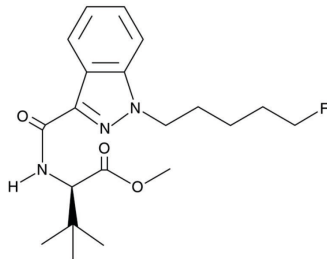


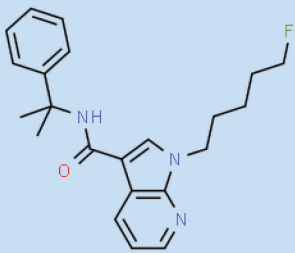
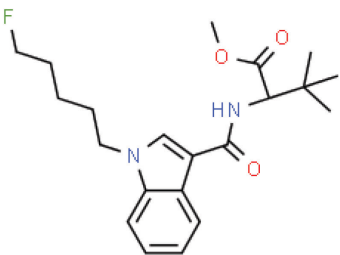
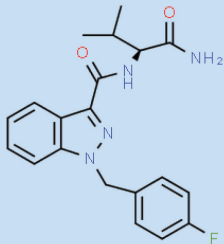
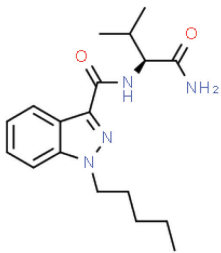
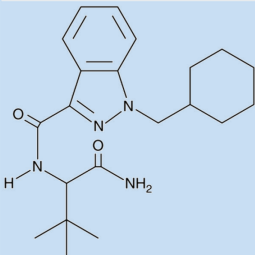
<b>N-Desmethylflunitrazepam</b>	Cerilliant®	Round Rock, USA
<b>N-Desmethylzopiclon</b>	Cerilliant®	Round Rock, USA
<b>Nifoxipam</b>	Chiron AS	Trondheim, Norwegen
<b>Nimetazepam</b>	Chiron AS	Trondheim, Norwegen
<b>Nitrazepam</b>	Cerilliant®	Round Rock, USA
<b>Nitrazolam</b>	Chiron AS	Trondheim, Norwegen
<b>Norclobazam</b>	Lipomed AG	Arlesheim, Schweiz
<b>Nordazepam</b>	Cerilliant®	Round Rock, USA
<b>Oxazepam</b>	Cerilliant®	Round Rock, USA
<b>Pivoxazepam</b>	Chiron AS	Trondheim, Norwegen
<b>Pyrazolam</b>	LGC	Luckenwalde, Deutschland
<b>Temazepam</b>	Cerilliant®	Round Rock, USA
<b>Zolpidem</b>	Lipomed AG	Arlesheim, Schweiz
<b>Zopiclon</b>	Cerilliant®	Round Rock, USA
<b>α-Hydroxyalprazolam</b>	Cerilliant®	Round Rock, USA
<b>α-Hydroxymidazolam</b>	Cerilliant®	Round Rock, USA
<b>Isotopenmarkierte Substanzanaloge (ISTD)</b>		
<b>3-Hydroxyphenazepam-d<sub>4</sub></b>	Cerilliant®	Round Rock, USA
<b>7-Aminoflunitrazepam-d<sub>7</sub></b>	Cerilliant®	Round Rock, USA
<b>Alprazolam-d<sub>5</sub></b>	Cerilliant®	Round Rock, USA
<b>Bromazepam-d<sub>7</sub></b>	Cerilliant®	Round Rock, USA
<b>Clobazam-<sup>13</sup>C<sub>6</sub></b>	Cerilliant®	Round Rock, USA
<b>Clonazepam-d<sub>4</sub></b>	Cerilliant®	Round Rock, USA
<b>Delorazepam-d<sub>4</sub></b>	LGC	Luckenwalde, Deutschland
<b>Diazepam-d<sub>5</sub></b>	Cerilliant®	Round Rock, USA
<b>Etizolam-d<sub>3</sub></b>	Cerilliant®	Round Rock, USA
<b>Flunitrazepam-d<sub>7</sub></b>	Cerilliant®	Round Rock, USA
<b>Lorazepam-d<sub>4</sub></b>	Cerilliant®	Round Rock, USA
<b>Midazolam-d<sub>4</sub></b>	Cerilliant®	Round Rock, USA
<b>N-Desmethylflunitrazepam-d<sub>4</sub></b>	Cerilliant®	Round Rock, USA
<b>N-Desmethylzopiclon-d<sub>4</sub></b>	Cerilliant®	Round Rock, USA
<b>Nitrazepam-d<sub>5</sub></b>	Cerilliant®	Round Rock, USA
<b>Norclobazam-<sup>13</sup>C<sub>6</sub></b>	Cerilliant®	Round Rock, USA
<b>Nordazepam-d<sub>5</sub></b>	Cerilliant®	Round Rock, USA
<b>Oxazepam-d<sub>5</sub></b>	Cerilliant®	Round Rock, USA
<b>Temazepam-d<sub>5</sub></b>	Cerilliant®	Round Rock, USA
<b>Zolpidem-d<sub>7</sub></b>	Cerilliant®	Round Rock, USA
<b>Zopiclon-d<sub>4</sub></b>	Cerilliant®	Round Rock, USA
<b>α-Hydroxyalprazolam-d<sub>5</sub></b>	Cerilliant®	Round Rock, USA
<b>α-Hydroxymidazolam-d<sub>4</sub></b>	Cerilliant®	Round Rock, USA

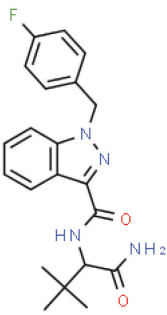
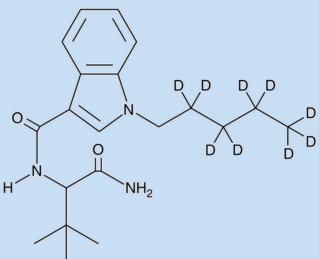
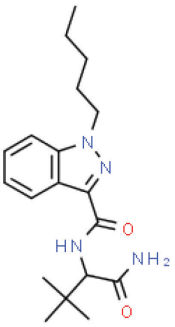
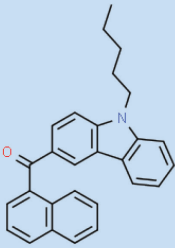
## 8.2 Namen, Struktur- und Summenformeln sowie die monoisotopischen Massen der detektierten Substanzen

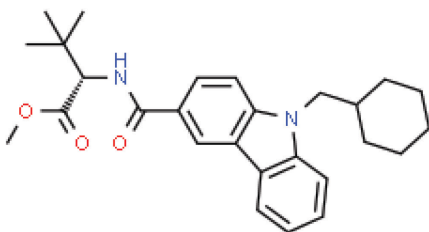
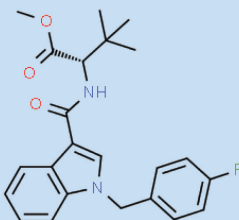
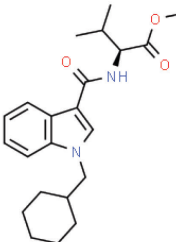
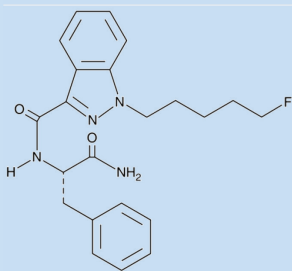
Nachfolgend sind die Namen, Struktur- und Summenformeln sowie die monoisotopischen Massen der detektierten Substanzen und der isotopenmarkierten bzw. deuterierten Substanzanaloga aufgelistet (Tab. 34).

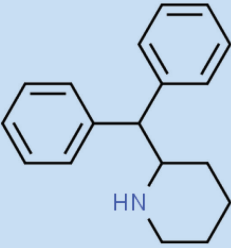
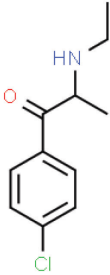
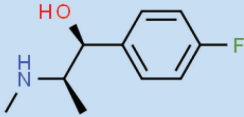
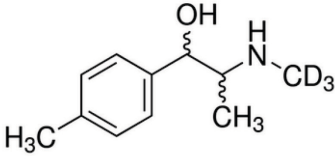
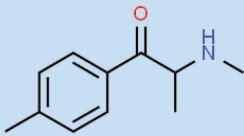
Tab. 34: Namen, Struktur- und Summenformeln sowie die monoisotopischen Massen der Substanzen

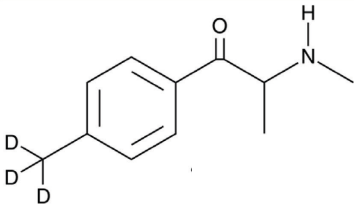
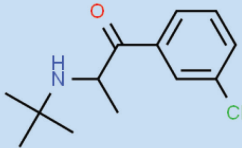
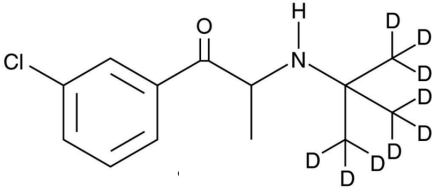
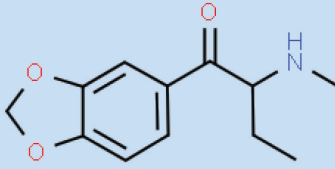
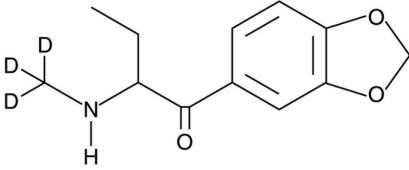
Name	Struktur- und Summenformel	Monoisotopische Masse [Da]
<u>Synthetische Cannabinoide</u>		
5F-ABICA	 $C_{19}H_{26}FN_3O_2$	347,2008
5F-AB-PINACA	 $C_{18}H_{25}FN_4O_2$	348,1961
5F-ADB	 $C_{20}H_{28}FN_3O_3$	377,2114

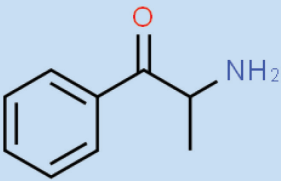
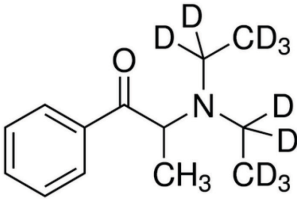
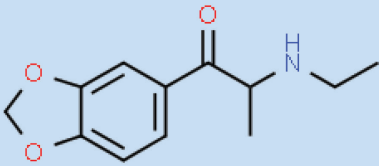
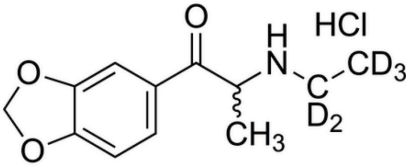
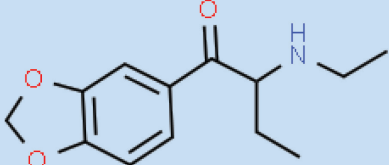
Name	Struktur- und Summenformel	Monoisotopische Masse [Da]
5F-CUMYL-P7AICA	 <chem>CC(C)(C)NC(=O)c1cnc(CCCCF)c2ccncc12</chem> $C_{22}H_{26}FN_3O$	367,2059
5F-MDMB-PICA	 <chem>CC(C)(C)C(=O)NC(=O)c1cnc(CCCCF)c2ccccc12</chem> $C_{21}H_{29}FN_2O_3$	376,2162
AB-FUBINACA	 <chem>CC(C)[C@H](C(=O)N)NC(=O)c1cnc2c(c1)nn(Cc3ccc(F)cc3)c2</chem> $C_{20}H_{21}FN_4O_2$	368,1648
AB-PINACA	 <chem>CC(C)[C@H](C(=O)N)NC(=O)c1cnc2c(c1)nn(CCCCC)c2</chem> $C_{18}H_{26}N_4O_2$	330,2055
ADB-CHMINACA	 <chem>CC(C)(C)C(=O)Nc1c(=O)c2c(c1)nn(Cc3ccccc3)c2C(=O)N</chem> $C_{21}H_{30}N_4O_2$	370,2368

Name	Struktur- und Summenformel	Monoisotopische Masse [Da]
ADB-FUBINACA	 <chem>C21H23FN4O2</chem>	382,1805
ADBICA-d9 (IS)	 <chem>C20H20D9N3O2</chem>	352,2825
ADB-PINACA	 <chem>C19H28N4O2</chem>	344,2212
EG-018	 <chem>C28H25NO</chem>	391,1936

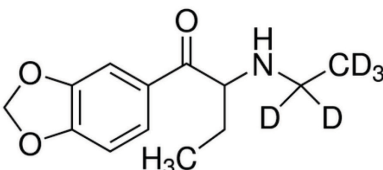
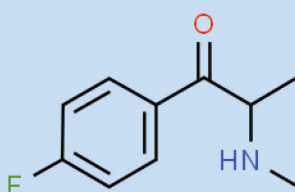
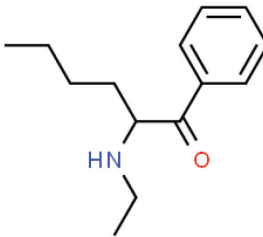
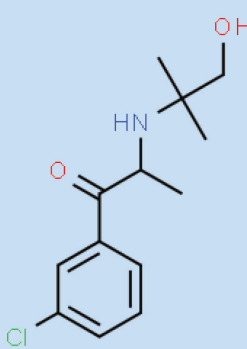
Name	Struktur- und Summenformel	Monoisotopische Masse [Da]
MDMB-CHMCZKA	 $C_{27}H_{34}N_2O_3$	434,2569
MDMB-FUBICA	 $C_{23}H_{25}FN_2O_3$	396,1849
MMB-CHMICA	 $C_{22}H_{30}N_2O_3$	370,2256
PX-2	 $C_{22}H_{25}FN_4O_2$	396,1961
<u>Synthetische Cathinone</u>		

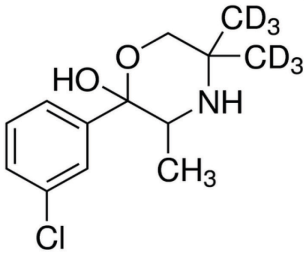
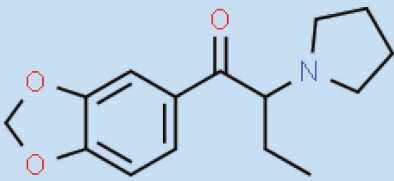
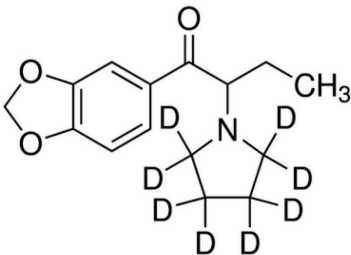
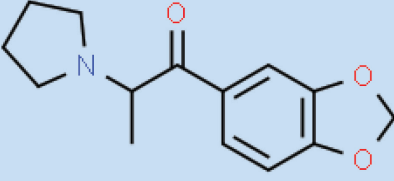
Name	Struktur- und Summenformel	Monoisotopische Masse [Da]
2-DPMP	 $C_{18}H_{21}N$	251,1674
4-CEC	 $C_{11}H_{14}ClNO$	211,0763
4-Flourophedrin	 $C_{10}H_{14}FNO$	183,1059
4-Methylephedrin-d <sub>3</sub>	 $C_{11}H_{14}D_3NO$ <a href="https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/ceillan/m160?lang=de&amp;region=DE">https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/ceillan/m160?lang=de&amp;region=DE</a>	182,1498
4-MMC	 $C_{11}H_{15}NO$	177,1153

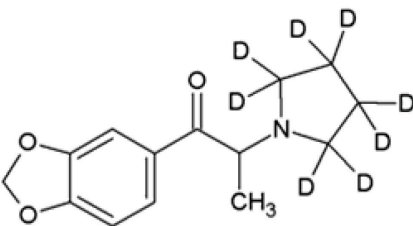
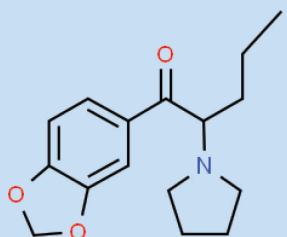
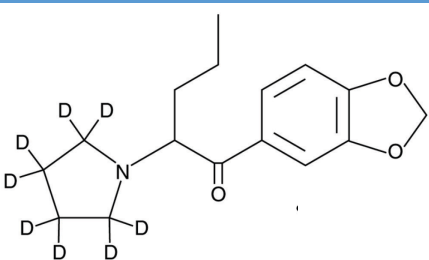
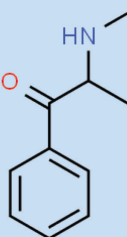
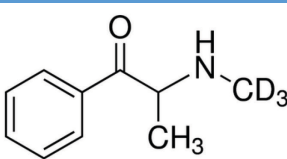
Name	Struktur- und Summenformel	Monoisotopische Masse [Da]
4-MMC-d <sub>3</sub>	 $C_{11}H_{12}D_3NO$	180,1342
Bupropion	 $C_{13}H_{18}ClNO$	239,1076
Bupropion-d <sub>9</sub>	 $C_{13}H_9ClD_9NO$	248,1642
Butylon	 $C_{12}H_{15}NO_3$	221,1051
Butylon-d <sub>3</sub>	 $C_{12}H_{12}D_3NO_3$	224,1240

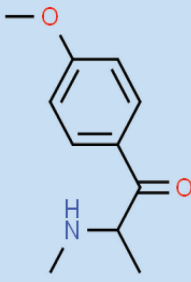
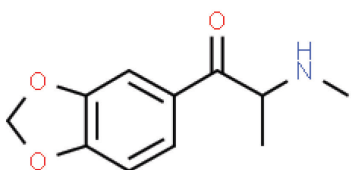
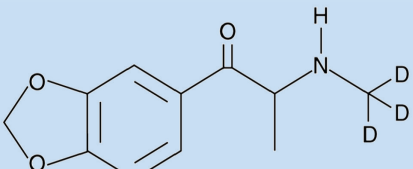
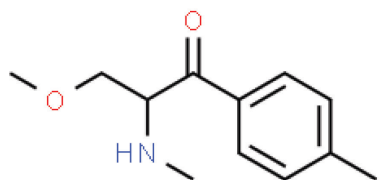
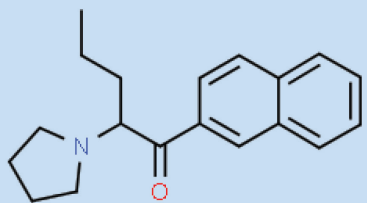
Name	Struktur- und Summenformel	Monoisotopische Masse [Da]
Cathinon	 $C_9H_{11}NO$	149,0840
Diethylpropion-d <sub>10</sub>	 $C_{13}H_9D_{10}NO$ <a href="https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/cefillian/d122?lang=de&amp;region=DE">https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/cefillian/d122?lang=de&amp;region=DE</a>	215,2094
Ethylon	 $C_{12}H_{15}NO_3$	221,1051
Ethylon-d <sub>5</sub>	 $C_{12}D_5H_{10}NO_3$ <a href="https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/cefillian/e072?lang=de&amp;region=DE">https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/cefillian/e072?lang=de&amp;region=DE</a>	226,1366
Eutylon	 $C_{13}H_{17}NO_3$	235,1208

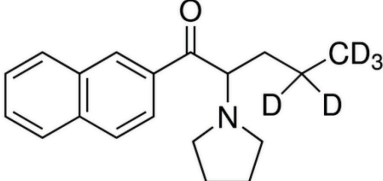
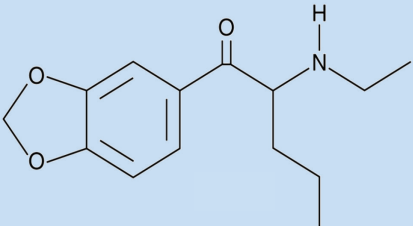
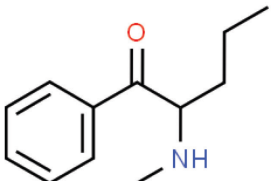
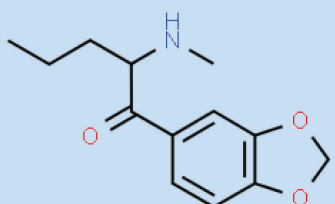
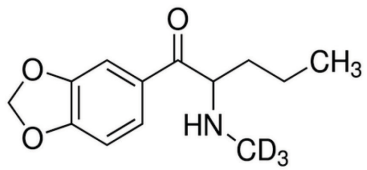


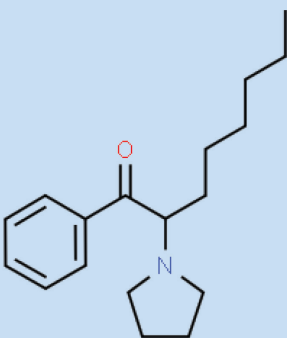
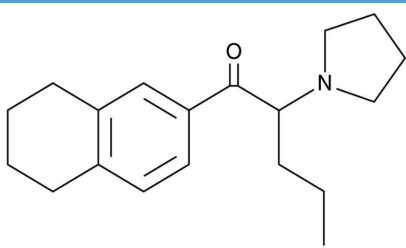
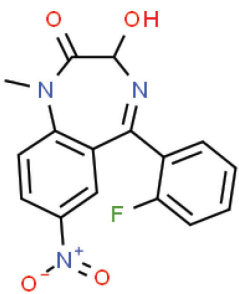
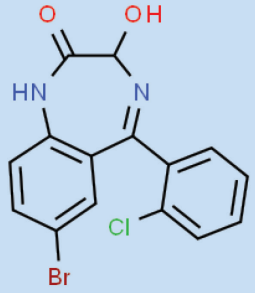
Name	Struktur- und Summenformel	Monoisotopische Masse [Da]
Eutylon-d <sub>5</sub>	 $C_{13}H_{12}D_5NO_3$ <a href="https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/ce1111/e091?lang=de&amp;region=DE">https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/ce1111/e091?lang=de&amp;region=DE</a>	240,1522
Flephedron	 $C_{10}H_{12}FNO$	181,0902
HEX-EN	 $C_{14}H_{21}NO$	219,1623
Hydroxybupropion	 $C_{13}H_{18}ClNO_2$	255,1026

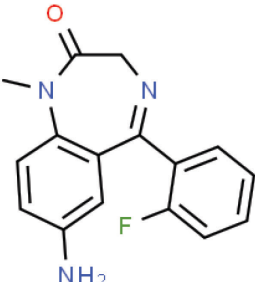

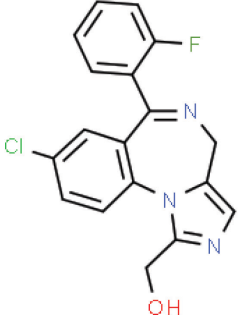
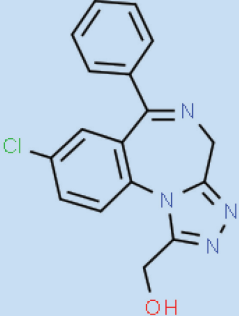
Name	Struktur- und Summenformel	Monoisotopische Masse [Da]
Hydroxybupropion- d <sub>6</sub>	 $C_{13}D_6H_{12}ClNO_2$ <a href="https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/ceillian/h062?lang=de&amp;region=DE">https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/ceillian/h062?lang=de&amp;region=DE</a>	261,1403
MDPBP	 $C_{15}H_{19}NO_3$	261,1365
MDPBP-d <sub>8</sub>	 $C_{15}H_{11}D_8NO_3$ <a href="https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/ceillian/m175?lang=de&amp;region=DE">https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/ceillian/m175?lang=de&amp;region=DE</a>	269,1867
MDPPP	 $C_{14}H_{17}NO_3$	247,1208

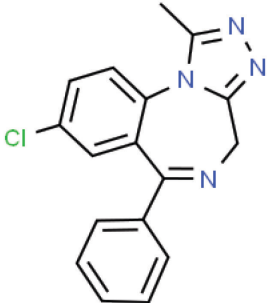
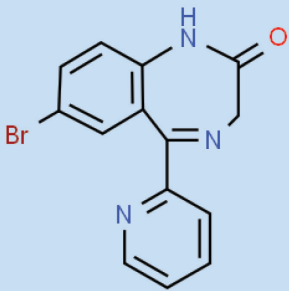
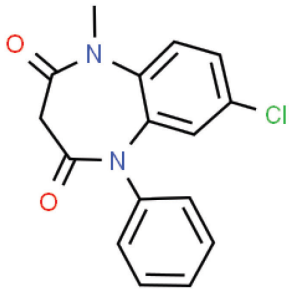
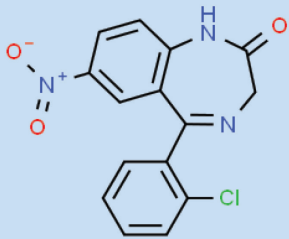
Name	Struktur- und Summenformel	Monoisotopische Masse [Da]
MDPPP-d <sub>8</sub>	 $C_{14}H_9D_8NO_3$	255,1711
MDPV	 $C_{16}H_{21}NO_3$	275,1521
MDPV-d <sub>8</sub>	 $C_{16}H_{13}D_8NO_3$	283,2024
Methcathinon	 $C_{10}H_{13}NO$	163,0997
Methcathinon-d <sub>3</sub>	 $C_{10}H_{10}D_3NO$ <a href="https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/ceillan/m189?lang=de&amp;region=DE">https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/ceillan/m189?</a> ang=de&region=DE	166,1185

Name	Struktur- und Summenformel	Monoisotopische Masse [Da]
Methedron	 <chem>CC(C)NC(=O)c1ccc(OC)cc1</chem> $C_{11}H_{15}NO_2$	193,1102
Methylon	 <chem>CC(C)NC(=O)c1ccc2c(c1)OCO2</chem> $C_{11}H_{13}NO_3$	207,0895
Methylon-d <sub>3</sub>	 <chem>CC(C)(C)(C)NC(=O)c1ccc2c(c1)OCO2</chem> $C_{11}H_{10}D_3NO_3$	210,1084
Mexedron	 <chem>CCOC(C)NC(=O)c1ccc(C)cc1</chem> $C_{12}H_{17}NO_2$	207,1259
Naphyron	 <chem>CC(C)(CCN1CCCC1)C(=O)c2ccc3ccccc3c2</chem> $C_{19}H_{23}NO$	281,1779

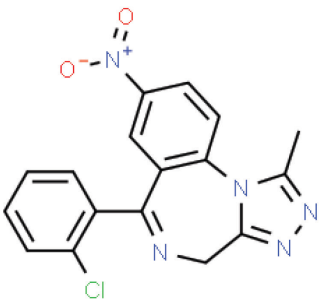
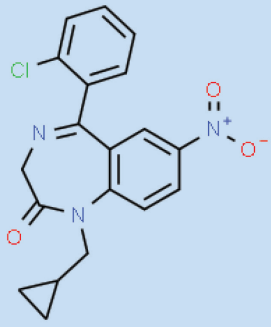
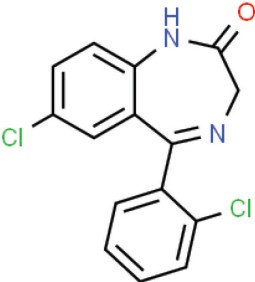

Name	Struktur- und Summenformel	Monoisotopische Masse [Da]
Naphyron-d <sub>5</sub>	 $C_{19}H_{18}D_5NO$ <a href="https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/ceillan/n085?lang=de&amp;region=DE">https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/ceillan/n085?lang=de&amp;region=DE</a>	286,2093
N-Ethylpentylon	 $C_{14}H_{19}NO_3$	249,1365
Pentedron	 $C_{12}H_{17}NO$	191,1310
Pentylon	 $C_{13}H_{17}NO_3$	235,1208
Pentylon-d <sub>3</sub>	 $C_{13}H_{14}D_3NO_3$ <a href="https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/ceillan/p102?lang=de&amp;region=DE">https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/ceillan/p102?lang=de&amp;region=DE</a>	238,1397

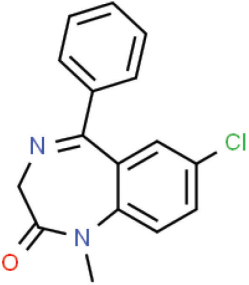
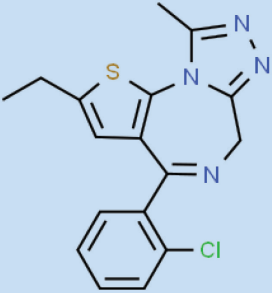
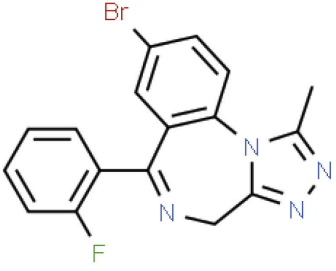
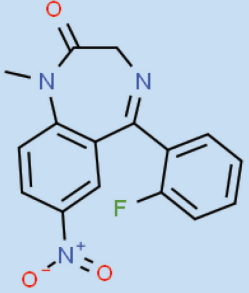
Name	Struktur- und Summenformel	Monoisotopische Masse [Da]
PV-9	 $C_{18}H_{27}NO$	273,2092
TH-PVP	 $C_{19}H_{27}NO$	285,2093
<u>(Designer-)BZD/Z-Drugs</u>		
3-Hydroxyflunitrazepam	 $C_{16}H_{12}FN_3O_4$	329,0811
3-Hydroxyphenazepam	 $C_{15}H_{10}BrClN_2O_2$	363,9613

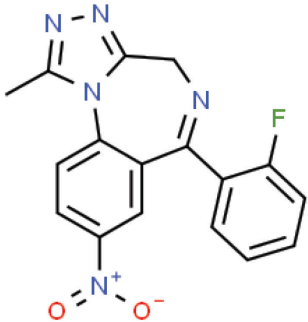
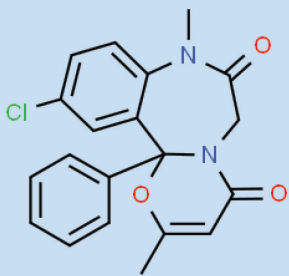
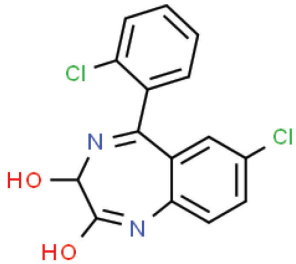
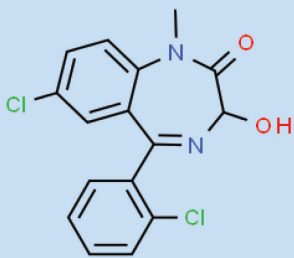
Name	Struktur- und Summenformel	Monoisotopische Masse [Da]
7-Aminoflunitrazepam	 <chem>CN1C(=O)CN=C2C(=C1)C(=C(C=C2)F)C3=CC=CC=C3N</chem> $C_{16}H_{14}FN_3O$	283,1120
Adinazolam	 <chem>CN1C(=O)CN=C2C(=C1)C(=C(C=C2)C3=CC=CC=C3)C4=CC=C(C=C4)N5C=NC=N5</chem> $C_{19}H_{18}ClN_5$	351,1250
$\alpha$ -Hydroxymidazolam	 <chem>CN1C(=O)CN=C2C(=C1)C(=C(C=C2)C3=CC=C(C=C3)F)C4=CC=C(C=C4)C5=CC=C(C=C5)CO</chem> $C_{18}H_{13}ClFN_3O$	341,0731
$\alpha$ -Hydroxyalprazolam	 <chem>CN1C(=O)CN=C2C(=C1)C(=C(C=C2)C3=CC=C(C=C3)Cl)C4=CC=C(C=C4)C5=CC=C(C=C5)CO</chem> $C_{17}H_{13}ClN_4O$	324,0777

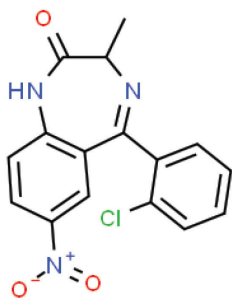
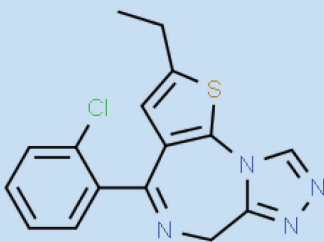
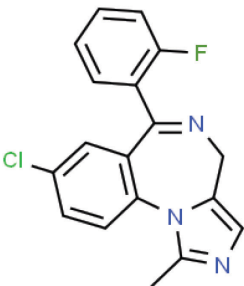
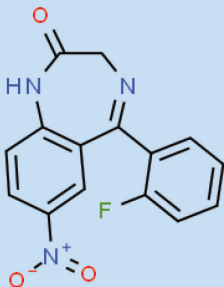
Name	Struktur- und Summenformel	Monoisotopische Masse [Da]
Alprazolam	 <chem>Cc1nn[nH]c1C2=CN(C(=C2)c3ccccc3)c4cc(Cl)ccc4</chem> $C_{17}H_{13}ClN_4$	308,0828
Bromazepam	 <chem>O=C1CN(C(=N1)c2ccncc2)c3cc(Br)ccc3</chem> $C_{14}H_{10}BrN_3O$	315,0007
Clobazam	 <chem>O=C1NC(=O)CC(=N1C2=CC=CC=C2)C3=CC(=CC=C3Cl)</chem> $C_{16}H_{13}ClN_2O_2$	300,0665
Clonazepam	 <chem>O=C1CN(C(=N1)c2cc(Cl)ccc2[N+](=O)[O-])c3ccccc3</chem> $C_{15}H_{10}ClN_3O_3$	315,0410

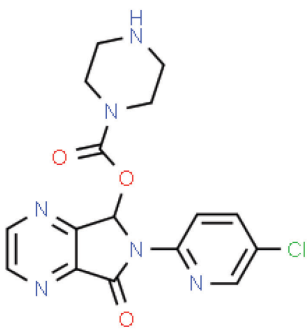
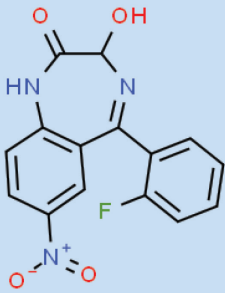
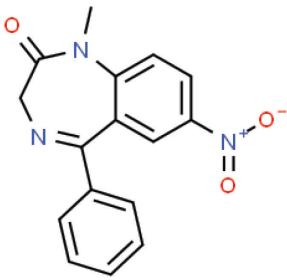
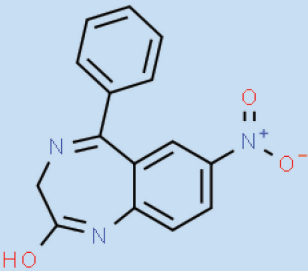


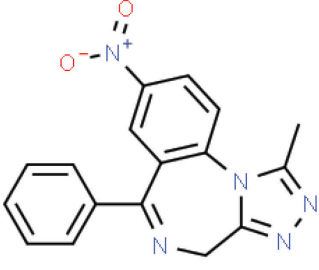
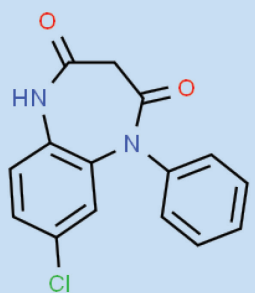
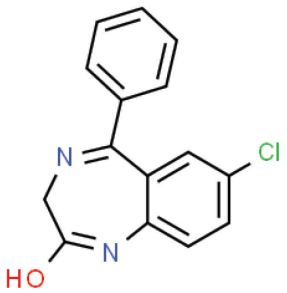
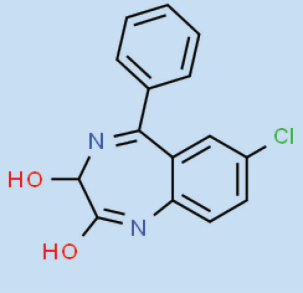
Name	Struktur- und Summenformel	Monoisotopische Masse [Da]
Clonazepam	 <chem>C1=CN2C(=C1)N(C2)C(=N1C=CC(=C1)[N+](=O)[O-])C(=C1C=CC(=C1)Cl)N1</chem> $C_{17}H_{12}ClN_5O_2$	353,0679
Cloniprazepam	 <chem>C1CC2(C1)CCN(C2)C(=N1C=CC(=C1)[N+](=O)[O-])C(=C1C=CC(=C1)Cl)N1</chem> $C_{19}H_{16}ClN_3O_3$	369,0880
Delorazepam	 <chem>O=C1NCC(=N1C(=C2C=CC(=C2)Cl)C(=C3C=CC(=C3)Cl)N2)N</chem> $C_{15}H_{10}Cl_2N_2O$	304,0170
Desalkylflurazepam	 <chem>O=C1NCC(=N1C(=C2C=CC(=C2)Cl)C(=C3C=CC(=C3)F)N2)N</chem> $C_{15}H_{10}ClFN_2O$	288,0465

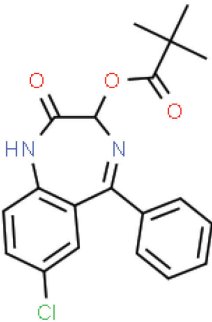
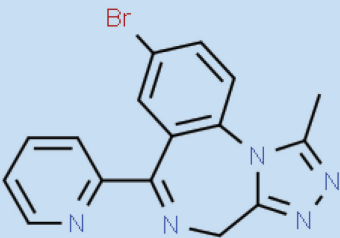
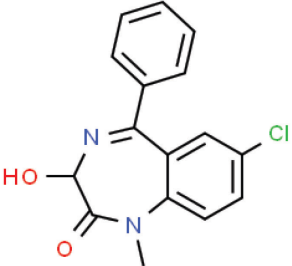
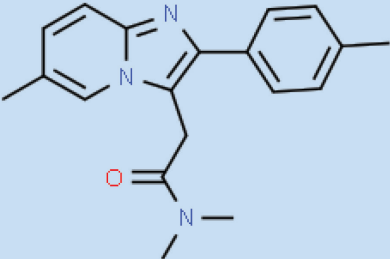
Name	Struktur- und Summenformel	Monoisotopische Masse [Da]
Diazepam	 <chem>C16H13ClN2O</chem>	284,0716
Etizolam	 <chem>C15H17ClN4S</chem>	342,0705
Flubromazolam	 <chem>C17H12BrFN4</chem>	370,0229
Flunitrazepam	 <chem>C13H12FN3O3</chem>	313,0862

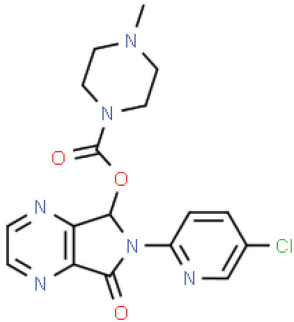
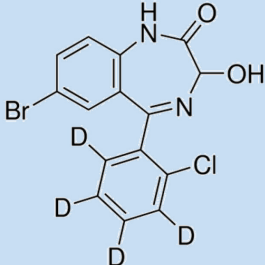
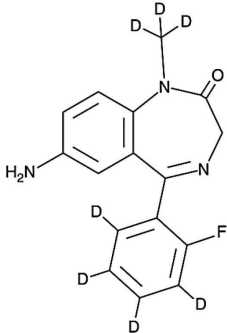
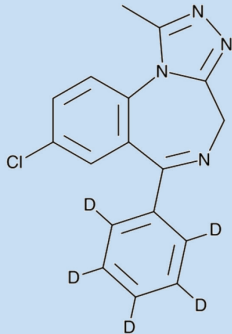
Name	Struktur- und Summenformel	Monoisotopische Masse [Da]
Flunitrazolam	 <chem>Cc1nn(c2cc(ccc2c1C3=CC=CC=C3F)N3C=CC=C3[N+](=O)[O-])</chem> $C_{17}H_{12}FN_5O_2$	337,0975
Ketazolam	 <chem>Cc1cc2c(c1N2C(=O)O)C3=CC=CC=C3C4=CC=C(C=C4)C5=CC=CC=C5Cl</chem> $C_{20}H_{17}ClN_2O_3$	368,0927
Lorazepam	 <chem>Cc1cc2c(c1N2C(=O)O)C3=CC=CC=C3C4=CC=C(C=C4)C5=CC=CC=C5Cl</chem> $C_{15}H_{10}Cl_2N_2O_2$	320,0119
Lormetazepam	 <chem>Cc1cc2c(c1N2C(=O)O)C3=CC=CC=C3C4=CC=C(C=C4)C5=CC=CC=C5Cl</chem> $C_{16}H_{12}Cl_2N_2O_2$	334,0275

Name	Struktur- und Summenformel	Monoisotopische Masse [Da]
Meclonazepam	 $\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{ClN}_3\text{O}_3$	329,0567
Metizolam	 $\text{C}_{16}\text{H}_{13}\text{ClN}_4\text{S}$	328,0549
Midazolam	 $\text{C}_{18}\text{H}_{13}\text{ClFN}$	325,0782
N-Desmethyl- flunitrazepam (Fonazepam)	 $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{FN}_3\text{O}_3$	299,0706

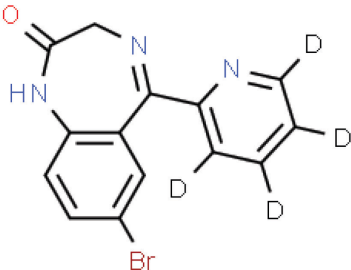
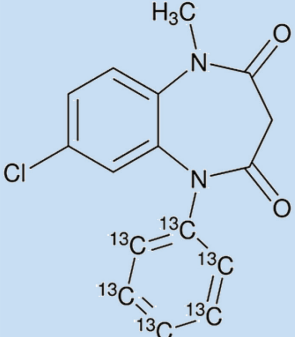
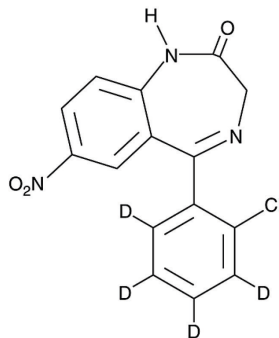
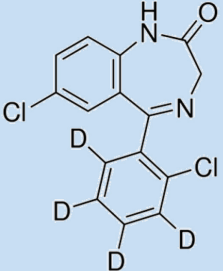
Name	Struktur- und Summenformel	Monoisotopische Masse [Da]
N-Desmethylzopiclon	 <chem>C16H15ClN6O3</chem>	374,0894
Nifoxipam	 <chem>C15H10FN3O4</chem>	315,0655
Nimetazepam	 <chem>C16H13N3O3</chem>	295,0957
Nitrazepam	 <chem>C15H11N3O3</chem>	281,0800

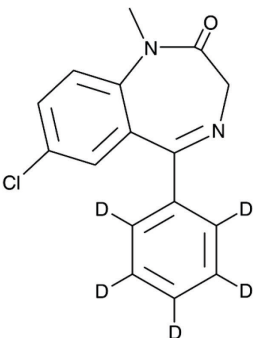

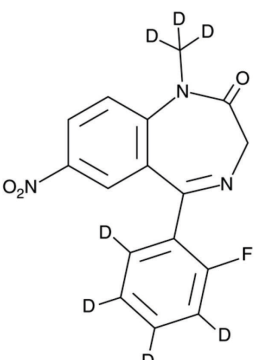
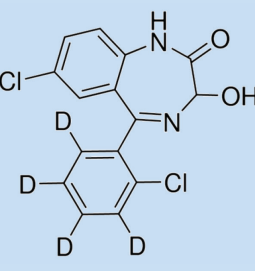
Name	Struktur- und Summenformel	Monoisotopische Masse [Da]
Nitrazolam	 <chem>C17H13N5O2</chem>	319,1069
Norclobazam	 <chem>C15H11ClN2O2</chem>	286,0509
Nordazepam	 <chem>C15H11ClN2O</chem>	270,0560
Oxazepam	 <chem>C15H11ClN2O2</chem>	286,0509

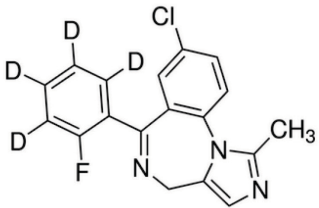
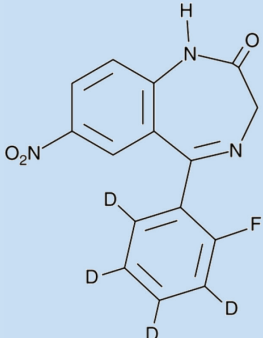
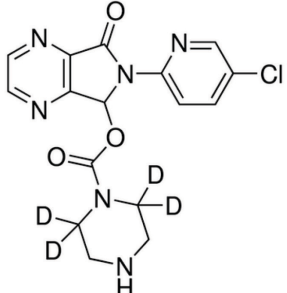
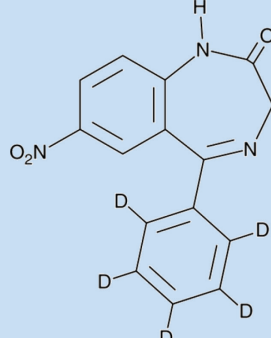
Name	Struktur- und Summenformel	Monoisotopische Masse [Da]
Pivoxazepam	 <chem>CC(C)(C)C(=O)OC1=NC2=CC=CC=C2C(=N1)C3=CC=C(Cl)C=C3</chem> $C_{20}H_{19}ClN_2O_3$	370,1084
Pyrazolam	 <chem>CC1=CN2C(=N1)C(=CN2)C3=CC=CC=C3C4=CC=CC=C4N=C5C=CC=CC5</chem> $C_{16}H_{12}BrN_5$	353,0275
Temazepam	 <chem>CC1=NC(=O)C(O)=NC2=CC=C(Cl)C=C2N1C3=CC=CC=C3</chem> $C_{16}H_{13}ClN_2O_2$	300,0665
Zolpidem	 <chem>CC1=CC=C(C=C1)C2=CC=CC=C2C(=N1C=CC=C(C)N1)C(=N2)C3=CC=CC=C3N(C)C</chem> $C_{19}H_{21}N_3O$	307,1684

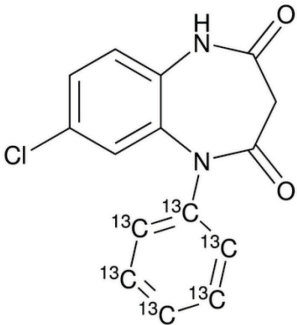
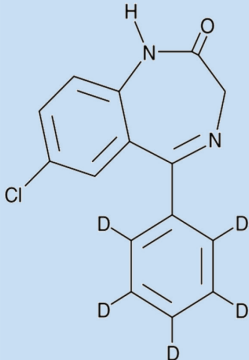
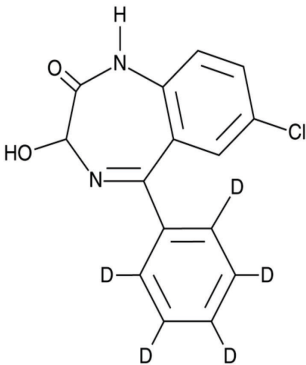
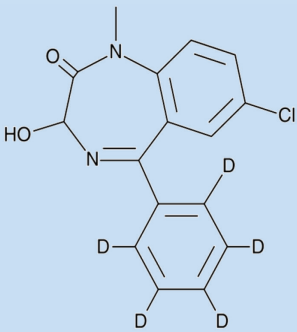
Name	Struktur- und Summenformel	Monoisotopische Masse [Da]
Zopiclon	 $C_{17}H_{17}ClN_6O_3$	388,1050
3-Hydroxy-phenazepam-d <sub>4</sub>	 $C_{15}H_6D_4BrClN_2O_2$ <a href="https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/ce111414?lang=de&amp;region=DE">https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/ce111414?lang=de&amp;region=DE</a>	367,9865
7-Amino-flunitrazepam-d <sub>7</sub>	 $C_{16}H_7D_7FN_3O$	290,1560
Alprazolam-d <sub>5</sub>	 $C_{17}H_8D_5ClN_4$	313,1143

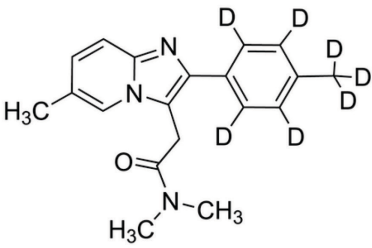
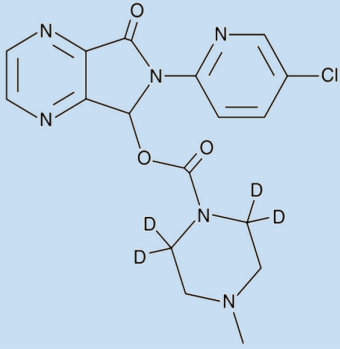
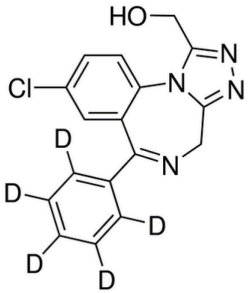
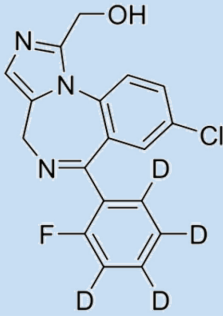


Name	Struktur- und Summenformel	Monoisotopische Masse [Da]
<b>Bromazepam-d<sub>4</sub></b>	 $C_{14}H_6D_4BrN_3O$	319,025818
<b>Clobazam-<sup>13</sup>C<sub>6</sub></b>	 $C_{10}^{13}C_6H_{13}ClN_2O_2$ <a href="https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/ceillian/c149?lang=de&amp;region=DE">https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/ceillian/c149?lang=de&amp;region=DE</a>	306,7000
<b>Clonazepam-d<sub>4</sub></b>	 $C_{15}H_6ClD_4N_3O_3$	319,0662
<b>Delorazepam-d<sub>4</sub></b>	 $C_{15}H_6D_4Cl_2N_2O$ <a href="https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/ceillian/d163?lang=de&amp;region=DE">https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/ceillian/d163?lang=de&amp;region=DE</a>	308,0421

Name	Struktur- und Summenformel	Monoisotopische Masse [Da]
<b>Diazepam-d<sub>5</sub></b>	 <chem>C16H8D5ClN2O</chem>	289,1030
<b>Etizolam-d<sub>3</sub></b>	 <chem>C17H12D3ClN4S</chem> <a href="https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/ce111ian/e082?lang=de&amp;region=DE">https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/ce111ian/e082?lang=de&amp;region=DE</a>	345,0894
<b>Flunitrazepam-d<sub>7</sub></b>	 <chem>C16H5D7FN3O3</chem>	320,1302
<b>Lorazepam-d<sub>4</sub></b>	 <chem>C15D4H6Cl2N2O2</chem>	324,0370

Name	Struktur- und Summenformel	Monoisotopische Masse [Da]
<b>Midazolam-d<sub>4</sub></b>	 <p><chem>C18D4H9ClFN3</chem></p> <p><a href="https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/ceillian/m918?lang=de&amp;region=DE">https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/ceillian/m918?lang=de&amp;region=DE</a></p>	329,1033
<b>N-Desmethyl-flunitrazepam-d<sub>4</sub></b>	 <p><chem>C15H6D4FN3O3</chem></p>	303,0957
<b>N-Desmethyl-zopiclon-d<sub>4</sub></b>	 <p><chem>C16H11D4ClN6O3</chem></p> <p><a href="https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/ceillian/d112?lang=de&amp;region=DE">https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/ceillian/d112?lang=de&amp;region=DE</a></p>	378,1145
<b>Nitrazepam-d<sub>5</sub></b>	 <p><chem>C15H6D5N3O3</chem></p>	286,1114

Name	Struktur- und Summenformel	Monoisotopische Masse [Da]
Norclobazam- <sup>13</sup> C <sub>6</sub>	 <sup>13</sup> C <sub>6</sub> C <sub>9</sub> H <sub>11</sub> ClN <sub>2</sub> O <sub>2</sub> <a href="https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/ce111ian/d128?lang=de&amp;region=DE">https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/ce111ian/d128?lang=de&amp;region=DE</a>	292.0509
Nordazepam-d <sub>5</sub>	 C <sub>15</sub> H <sub>6</sub> ClD <sub>5</sub> N <sub>2</sub> O	275,0874
Oxazepam-d <sub>5</sub>	 C <sub>15</sub> H <sub>6</sub> ClD <sub>5</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	291,0823
Temazepam-d <sub>5</sub>	 C <sub>16</sub> H <sub>8</sub> ClD <sub>5</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	305,0979

Name	Struktur- und Summenformel	Monoisotopische Masse [Da]
<b>Zolpidem-d<sub>7</sub></b>	 $C_{19}H_{14}N_3OD_7$ <a href="https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/ceillan/z008?lang=de&amp;region=DE">https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/ceillan/z008?lang=de&amp;region=DE</a>	314,2124
<b>Zopiclon-d<sub>4</sub></b>	 $C_{17}H_{13}D_4ClN_6O_3$	392,1302
<b>α-Hydroxy-alprazolam-d<sub>5</sub></b>	 $C_{17}D_5H_8ClN_4O$ <a href="https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/ceillan/a908?lang=de&amp;region=DE">https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/ceillan/a908?lang=de&amp;region=DE</a>	329,1092
<b>α-Hydroxy-midazolam-d<sub>4</sub></b>	 $C_{18}D_4H_9ClFN_3O$	345,0982

\*Die Quellen der Struktur-/Summenformeln und die monoisotopischen Massen sind, wenn nicht anders in der Tabelle angegeben, die Internetseiten/Datenbanken von Cayman Chemical [www.caymanchemical.com] und Chemspider [www.chemspider.com] unter dem jeweiligen Namen als Suchbegriff (letzter Zugriff jeweils 16-07-2020).

### 8.3 Substanzen, dazugehörige interne Standards und ermittelte Responsefaktoren

In Tabelle 35 sind die ermittelten Responsefaktoren für die detektierten Substanzen dargestellt.

Tab. 35: Detektierte Substanzen und die ermittelten Responsefaktoren der dazugehörigen Standards

Substanz	Interner Standard	Responsefaktor
<u>Synthetische Cannabinoide</u>		
5F-ABICA	ADBICA-d <sub>9</sub>	1,100
5F-AB-PINACA		0,868
AB-FUBINACA		0,561
PX-2		0,919
AB-PINACA		1,062
ADB-PINACA		1,184
5F-CUMYL-P7AICA		0,543
ADB-CHMINACA		0,601
5F-MDMB-PICA		1,663
MDMB-FUBICA		1,404
ADB-FUBINACA		0,813
5F-ADB		0,720
MMB-CHMICA		1,944
MDMB-CHMCZKA		2,228
EG-018		1,168
<u>Cathinone</u>		
4-Flourophedrin	4-Methylephedrin-d <sub>3</sub>	0,460
4-MMC	4-MMC-d <sub>3</sub>	1,914
Bupropion	Bupropion-d <sub>9</sub>	1,930
Butylon	Butylon-d <sub>3</sub>	1,432
Cathinon	Methcathinon-d <sub>3</sub>	0,188
Ethylon	Ethylon-d <sub>5</sub>	3,152
Flephedron	4-MMC-d <sub>3</sub>	0,810
Hydroxybupropion	Hydroxybupropion-d <sub>6</sub>	1,035

MDPBP	MDPBP-d <sub>8</sub>	0,892
MDPV	MDPV-d <sub>8</sub>	0,822
Methcathinon	Methcathinon-d <sub>3</sub>	1,933
Methedron	Methylon-d <sub>3</sub>	0,691
Methylon	Methylon-d <sub>3</sub>	0,697
Naphyron	Naphyron-d <sub>5</sub>	1,794
Pentylon	Pentylon-d <sub>3</sub>	0,612
Pentedron	Pentylon-d <sub>3</sub>	0,402
PV-9	MDPV-d <sub>8</sub>	1,320
HEX-EN	Diethylpropion-d <sub>10</sub>	0,797
Mexedron	Diethylpropion-d <sub>10</sub>	0,627
4-CEC	Hydroxybupropion-d <sub>6</sub>	0,620
TH-PVP	Naphyron-d <sub>5</sub>	1,613
2-DPMP	Naphyron-d <sub>5</sub>	0,913
Eutylon	Eutylon-d <sub>5</sub>	0,806
MDPPP	MDPPP-d <sub>8</sub>	1,374
N-Ethylpentylon	Pentylon-d <sub>3</sub>	0,263
<b><u>BZD/Z-Drugs</u></b>		
7-Aminoflunitrazepam	7-Aminoflunitrazepam-d <sub>7</sub>	0,783
3-Hydroxyflunitrazepam	7-Aminoflunitrazepam-d <sub>7</sub>	0,954
3-Hydroxyphenazepam	3-Hydroxyphenazepam-d <sub>4</sub>	0,854
Adinazolam	Alprazolam-d <sub>5</sub>	0,036
Alprazolam	Alprazolam-d <sub>5</sub>	1,244
Bromazepam	Bromazepam-d <sub>7</sub>	1,018
Clobazam	Clobazam- <sup>13</sup> C <sub>6</sub>	1,097
Clonazepam	Clonazepam-d <sub>4</sub>	1,040
Clonazolam	Alprazolam-d <sub>5</sub>	0,603
Cloniprazepam	Clobazam- <sup>13</sup> C <sub>6</sub>	0,878
Delorazepam	Delorazepam-d <sub>4</sub>	1,150
Desalkylflurazepam	N-Desmethyflunitrazepam-d <sub>4</sub>	1,139
Diazepam	Diazepam-d <sub>5</sub>	5,861
Etizolam	Etizolam-d <sub>3</sub>	0,928

Flubromazolam	Alprazolam-d <sub>5</sub>	0,542
Flunitrazepam	Flunitrazepam-d <sub>7</sub>	1,103
Flunitrazolam	Alprazolam-d <sub>5</sub>	0,907
Ketazolam	Lorazepam-d <sub>4</sub>	0,444
Lorazepam	Lorazepam-d <sub>4</sub>	1,408
Lormetazepam	Diazepam-d <sub>5</sub>	4,396
Meclonazepam	7-Aminoflunitrazepam-d <sub>7</sub>	0,650
Metizolam	Alprazolam-d <sub>5</sub>	0,684
Midazolam	Midazolam-d <sub>4</sub>	0,887
N-Desmethyflunitrazepam	N-Desmethyflunitrazepam-d <sub>4</sub>	1,079
N-Desmethylopiclon	N-Desmethylopiclon-d <sub>4</sub>	1,189
Nifoxipam	Lorazepam-d <sub>4</sub>	0,257
Nimetazepam	Diazepam-d <sub>5</sub>	5,539
Nitrazepam	Nitrazepam-d <sub>5</sub>	1,342
Nitrazolam	Alprazolam-d <sub>5</sub>	0,680
Norclobazam	Norclobazam- <sup>13</sup> C <sub>6</sub>	0,460
Nordazepam	Nordazepam-d <sub>5</sub>	1,551
Oxazepam	Oxazepam-d <sub>5</sub>	1,156
Pivoxazepam	Diazepam-d <sub>5</sub>	3,633
Pyrazolam	Alprazolam-d <sub>5</sub>	0,285
Temazepam	Temazepam-d <sub>5</sub>	1,050
Zolpidem	Zolpidem-d <sub>7</sub>	1,736
Zopiclon	Zopiclon-d <sub>4</sub>	1,105
α-Hydroxyalprazolam	α-Hydroxyalprazolam-d <sub>5</sub>	0,649
α-Hydroxymidazolam	α-Hydroxymidazolam-d <sub>4</sub>	1,039

#### 8.4 Detaillierte Validierungsergebnisse der LC-ESI-MS/MS-Methoden zum Nachweis von SCRA, Cathinonen und BZD/Z-Drugs in Serumproben

In den nachfolgenden Tabellen werden die detaillierten Validierungsergebnisse (Regressionsfunktionen, Bias, Wiederholpräzisionen, Laborpräzisionen, Matrixeffekte,



Wiederfindungsraten und Extraktionsausbeuten) für SCRA (Tab. 36 und Tab. 37), Cathinone (Tab. 38 und Tab. 39) und BZD (Tab. 40 und Tab. 41) gezeigt.

**Tab. 36: Regressionsfunktionen, Bias und Präzision der SCRA**

Substanz	Regressionsfunktion	QC [ng/mL]	Bias [%]	Wiederholpräzision [%]	Laborpräzision [%]
5F-ABICA	$y=0,161x+0,003$	0,1	0,41	2,53	7,61
		1,0	1,45	2,40	7,15
		7,0	1,35	1,15	6,19
5F-AB-PINACA	$y=0,378x+0,037$	0,1	8,18	3,98	13,91
		1,0	6,04	2,25	11,31
		7,0	6,82	1,61	8,24
5F-ADB	tägliche Kalibrierung	0,1	77,62	7,60	48,92
		1,0	7,01	2,09	19,13
		7,0	9,54	3,59	15,46
5F-CUMYL-P7AICA	$y=0,146x+0,808$	0,1	-	-	-
		1,0	-	-	-
		7,0	0,86	2,71	12,10
5F-MDMB-PICA	$y=1,310x+0,123$	0,1	23,98	2,89	18,02
		1,0	20,46	3,73	15,73
		7,0	20,09	6,04	17,23
AB-FUBINACA	$y=0,190x+0,020$	0,1	6,28	2,72	12,69
		1,0	3,76	2,24	5,40
		7,0	4,28	1,05	7,05
AB-PINACA	$y=0,379x-0,007$	0,1	6,28	1,22	6,53
		1,0	2,81	0,71	4,74
		7,0	6,40	1,18	4,61
ADB-CHMINACA	$y=0,160x-0,001$	0,1	-0,49	0,54	6,10
		1,0	0,95	0,98	4,64
		7,0	2,00	0,71	3,95
ADB-FUBINACA	tägliche Kalibrierung	0,1	55,44	5,98	59,15
		1,0	7,96	2,60	8,53
		7,0	8,02	2,72	14,53
ADB-PINACA	$y=0,397x+0,031$	0,1	5,85	1,82	5,23
		1,0	0,92	0,92	3,62
		7,0	1,49	0,59	2,27
EG-018	$y=0,161x+0,003$	0,1	-	-	-
		1,0	-	-	-
		7,0	-	-	-
MDMB-CHMCZKA	$y=0,038x+0,005$	0,1	11,14	6,32	35,05
		1,0	-3,87	2,50	22,90
		7,0	5,38	4,61	28,37
MDMB-FUBICA	tägliche Kalibrierung	0,1	75,24	3,75	49,50
		1,0	8,85	1,43	7,80
		7,0	8,64	1,60	11,86

Substanz	Regressions-funktion	QC [ng/mL]	Bias [%]	Wiederhol-präzision [%]	Labor-präzision [%]
MMB-CHMICA	tägliche Kalibrierung	0,1	67,21	6,31	37,29
		1,0	7,63	2,43	10,82
		7,0	8,92	2,15	15,86
PX-2	$y=0,294x+0,034$	0,1	0,42	1,11	7,55
		1,0	5,00	2,70	7,36
		7,0	5,12	1,21	9,45

Tab. 37: Wiederfindungsraten, Extraktionsausbeuten und Matrixeffekte der SCRA

Substanz	QC [ng/mL]	Matrix-effekt	RSD	Wieder-findung	RSD	Extraktions-ausbeute	RSD
<b>5F-ABICA</b>	niedrig	93%	11%	71%	21%	67%	29%
	hoch	87%	32%	86%	23%	66%	33%
<b>5F-AB-PINACA</b>	niedrig	74%	9%	137%	12%	101%	18%
	hoch	84%	32%	139%	11%	111%	33%
<b>5F-ADB</b>	niedrig	39%	4%	137%	7%	54%	9%
	hoch	68%	35%	119%	20%	83%	46%
<b>5F-CUMYL-P7AICA</b>	niedrig	20%	5%	232%	6%	46%	10%
	hoch	48%	21%	166%	8%	79%	26%
<b>5F-MDMB-PICA</b>	niedrig	78%	18%	137%	21%	107%	28%
	hoch	76%	33%	141%	14%	107%	42%
<b>AB-FUBINACA</b>	niedrig	75%	7%	132%	18%	100%	18%
	hoch	81%	33%	133%	13%	102%	35%
<b>AB-PINACA</b>	niedrig	94%	13%	129%	17%	122%	22%
	hoch	77%	34%	139%	10%	103%	36%
<b>ADB-CHMINACA</b>	niedrig	61%	15%	134%	17%	81%	20%
	hoch	57%	35%	128%	9%	72%	39%
<b>ADB-FUBINACA</b>	niedrig	66%	24%	109%	26%	71%	31%
	hoch	69%	37%	113%	22%	80%	48%
<b>ADB-PINACA</b>	niedrig	71%	15%	137%	16%	98%	25%
	hoch	66%	34%	136%	10%	88%	36%
<b>EG-018</b>	niedrig	4%	13%	244%	7%	9%	11%
	hoch	1%	66%	43%	29%	0%	43%

Substanz	QC [ng/mL]	Matrix- effekt	RSD	Wieder- findung	RSD	Extraktions- ausbeute	RSD
<b>MDMB-CHMCZCA</b>	niedrig	4%	59%	53%	46%	2%	34%
	hoch	5%	49%	36%	28%	2%	51%
<b>MDMB-FUBICA</b>	niedrig	68%	23%	117%	26%	78%	32%
	hoch	63%	36%	120%	20%	79%	48%
<b>MMB-CHMICA</b>	niedrig	50%	26%	112%	26%	56%	34%
	hoch	49%	38%	110%	23%	56%	48%
<b>PX-2</b>	niedrig	81%	13%	131%	13%	107%	19%
	hoch	80%	33%	137%	13%	104%	35%

Tab. 38: Regressionsfunktionen, Bias und Präzision der Cathinone

Substanz	Regressions- funktion	QC [ng/mL]	Bias [%]	Wiederhol- präzision [%]	Labor- präzision [%]
2-DPMP	$y=0,018x+0,009$	15	-2,92	2,42	7,89
		150	-5,89	1,64	5,42
		450	0,34	1,31	8,42
4-CEC	$y=0,015x-0,061$	15	-10,12	2,65	7,60
		150	-1,22	1,38	6,52
		450	-0,19	0,75	4,60
4-Flourephehrin	$y=0,010x+0,003$	15	-3,01	1,84	9,18
		150	-0,37	0,86	6,25
		450	-0,35	0,75	4,87
Bupropion	$y=0,040x-0,019$	15	-0,71	2,70	3,49
		150	2,34	3,03	3,43
		450	0,18	2,74	2,74
Butylon	$y=0,029x+0,044$	15	-4,10	2,26	4,85
		150	1,25	1,51	4,90
		450	0,64	0,65	3,73
Cathinon	$y=0,005x-0,033$	15	11,36	2,06	3,07
		150	-8,10	3,48	8,16
		450	-3,25	1,17	8,49
Ethylon	$y=0,064x+0,102$	15	-3,49	2,14	6,85
		150	-1,30	2,67	5,07
		450	-0,16	0,72	3,92
Eutylon	$y=0,015x+0,066$	15	0,76	1,31	4,82
		150	-1,32	1,10	6,66
		450	1,12	1,43	8,97
Flephedron	$y=0,015x+0,120$	15	-42,44	2,52	4,37
		150	1,29	1,08	4,31
		450	-2,38	0,69	4,80

Substanz	Regressions- funktion	QC [ng/mL]	Bias [%]	Wiederhol- präzision [%]	Labor- präzision [%]
HEX-EN	$y=0,016x+0,058$	15	1,98	1,75	4,59
		150	0,84	1,10	5,85
		450	-1,46	0,64	3,46
Hydroxy- bupropion	$y=0,022x-0,004$	15	-0,96	1,20	3,32
		150	0,61	0,70	3,70
		450	0,59	0,63	2,40
MDPBP	$y=0,018x+0,013$	15	-1,75	3,27	3,40
		150	0,90	1,18	2,84
		450	-0,07	2,29	2,29
MDPPP	$y=0,027x+0,011$	15	0,42	0,92	3,05
		150	0,67	0,98	3,22
		450	0,55	0,60	2,31
MDPV	$y=0,017x+0,016$	15	-4,15	2,43	3,05
		150	1,25	2,84	2,84
		450	-1,02	1,01	1,95
Mephedron (4-MMC)	$y=0,037x+0,087$	15	-8,62	6,76	6,76
		150	0,55	2,29	4,19
		450	1,13	1,04	3,62
Methcathinon	$y=0,039x+0,043$	15	-4,41	1,21	4,01
		150	-0,01	1,34	3,68
		450	0,82	0,83	2,85
Methedron	$y=0,014x+0,032$	15	-11,57	4,37	4,37
		150	1,12	1,99	3,16
		450	0,39	1,14	4,25
Methylon	$y=0,014x+0,022$	15	-2,15	4,68	0,05
		150	1,04	2,42	2,42
		450	-0,31	1,85	2,55
Mexedron	$y=0,012x+0,050$	15	0,30	1,01	4,74
		150	1,04	1,14	5,08
		450	-2,25	0,87	2,48

Substanz	Regressions-funktion	QC [ng/mL]	Bias [%]	Wiederhol-präzision [%]	Labor-präzision [%]
Naphyron	$y=0,035x+0,138$	15	1,58	2,76	5,58
		150	1,01	0,74	7,01
		450	-4,66	0,74	4,20
N-Ethylpentylon	$y=0,006x-0,023$	15	-7,75	3,33	9,13
		150	-2,74	1,48	8,97
		450	-3,60	1,00	5,06
Pentedron	$y=0,009x-0,017$	15	-1,84	0,83	5,14
		150	-0,14	0,48	5,44
		450	-1,90	0,89	3,38
Pentylon	$y=0,012x+0,021$	15	0,82	1,36	3,74
		150	0,83	1,45	3,38
		450	0,28	0,79	1,98
PV-9	$y=0,022x+0,013$	15	38,03	1,95	5,68
		150	28,76	0,83	8,32
		450	-7,10	2,25	11,47
TH-PVP	$y=0,031x+0,143$	15	6,07	1,86	6,62
		150	2,74	1,40	7,62
		450	-7,79	0,81	5,45

Tab. 39: Wiederfindungsraten, Extraktionsausbeuten und Matrixeffekte der Cathinone

Substanz	QC [ng/mL]	Matrix- effekt	RSD	Wieder- findung	RSD	Extraktions- ausbeute	RSD
2-DPMP	niedrig	111%	5,2%	133%	5,5%	148%	8,1%
	hoch	106%	2,3%	158%	3,2%	168%	1,9%
4-CEC	niedrig	109%	5,7%	137%	4,7%	150%	7,2%
	hoch	102%	3,0%	163%	3,4%	166%	2,5%
4 Flourophedrin	niedrig	79%	10%	39%	9,9%	31%	5,4%
	hoch	95%	4,9%	47%	8,3%	45%	8,9%
Bupropion	niedrig	115%	5,6%	136%	3,4%	156%	4,9%
	hoch	112%	2,6%	157%	3,0%	176%	2,0%
Butylon	niedrig	106%	6,2%	135%	5,0%	142%	4,6%
	hoch	101%	3,4%	160%	3,2%	162%	1,2%
Cathinon	niedrig	104%	5,4%	73%	9,3%	75%	8,3%
	hoch	99%	5,2%	94%	6,3%	93%	4,1%
Ethylon	niedrig	105%	8,4%	130%	4,6%	136%	4,8%
	hoch	102%	3,3%	156%	3,5%	159%	2,3%
Eutylon	niedrig	107%	5,7%	137%	4,6%	147%	6,6%
	hoch	102%	2,8%	162%	3,0%	165%	1,3%
Flephedron	niedrig	108%	7,8%	121%	4,1%	131%	5,8%
	hoch	97%	3,0%	179%	1,9%	175%	1,5%
HEX-EN	niedrig	123%	5,1%	138%	3,7%	169%	6,9%
	hoch	112%	2,2%	163%	3,1%	183%	2,4%
Hydroxybupropion	niedrig	113%	7,4%	132%	5,4%	148%	5,6%
	hoch	101%	2,5%	170%	4,2%	171%	3,4%
MDPBP	niedrig	104%	6,1%	137%	4,5%	142%	5,9%
	hoch	104%	3,2%	154%	3,2%	161%	1,6%
MDPPP	niedrig	104%	6,1%	132%	4,9%	138%	7,8%
	hoch	104%	3,1%	149%	3,0%	156%	2,2%
MDPV	niedrig	104%	4,9%	135%	4,2%	140%	5,7%
	hoch	106%	3,0%	152%	3,4%	160%	2,4%

Substanz	QC [ng/mL]	Matrix- effekt	RSD	Wieder- findung	RSD	Extraktions- ausbeute	RSD
Mephedron (4-MMC)	niedrig	111%	5,1%	124%	6,1%	138%	7,6%
	hoch	102%	3,7%	158%	3,7%	161%	1,2%
Methcathinon	niedrig	106%	5,4%	112%	5,4%	120%	7,0%
	hoch	98%	3,5%	145%	3,4%	142%	1,1%
Methedron	niedrig	102%	6,5%	111%	6,6%	113%	3,8%
	hoch	98%	4,1%	146%	4,1%	143%	2,4%
Methylon	niedrig	95%	10%	112%	5,6%	106%	5,0%
	hoch	98%	4,2%	141%	4,8%	137%	2,7%
Mexedron	niedrig	106%	5,6%	127%	5,1%	135%	8,2%
	hoch	99%	2,9%	161%	3,3%	160%	2,1%
Naphyron	niedrig	105%	5,5%	128%	5,5%	134%	6,8%
	hoch	107%	3,3%	142%	6,6%	152%	5,0%
N-Ethylpentylon	niedrig	106%	6,9%	138%	3,7%	146%	5,8%
	hoch	104%	2,8%	155%	2,7%	161%	1,7%
Pentedron	niedrig	112%	5,6%	136%	4,4%	152%	6,6%
	hoch	102%	2,7%	169%	2,7%	171%	1,6%
Pentylon	niedrig	109%	7,6%	141%	4,1%	153%	5,6%
	hoch	104%	3,1%	172%	2,7%	178%	1,2%
PV 9	niedrig	106%	5,8%	125%	9,6%	132%	10%
	hoch	107%	3,0%	141%	8,1%	150%	7,7%
TH-PVP	niedrig	106%	5,7%	128%	7,6%	136%	9,1%
	hoch	106%	3,0%	144%	5,0%	152%	4,3%



Tab. 40: Regressionsfunktionen, Bias und Präzision der BZD/Z-Drugs

Substanz	Regressionsfunktion	QC [ng/mL]	Bias [%]	Wiederholpräzision [%]	Laborpräzision [%]
3-Hydroxy-flunitrazepam	$y=0,0543x-0,0087$	2	-0,29	2,45	19,26
		50	7,06	1,64	32,60
		200	7,63	3,26	27,48
3-Hydroxy-phenazepam	$y=0,1132x-0,0241$	2	2,69	2,23	11,41
		50	4,39	1,57	8,76
		200	3,32	1,29	5,52
7-Amino-flunitrazepam	$y=0,0365x-0,0278$	2	-35,48	1,76	10,11
		50	4,83	3,31	12,77
		200	3,42	1,21	12,71
Adinazolam	$y=0,0020x+0,0019$	2	42,40	3,48	17,93
		50	16,07	2,37	20,61
		200	2,01	1,43	9,20
Alprazolam	$y=0,0602x+0,0283$	2	18,69	1,05	8,89
		50	-0,12	1,17	12,49
		200	-14,42	1,24	7,19
Bromazepam	$y=0,0496x-0,0683$	2	-54,90	3,41	19,48
		50	0,71	1,12	12,58
		200	2,12	1,82	9,12
Clobazam	$y=0,0623x-0,2040$	2	-	-	-
		50	-8,28	3,30	14,71
		200	-3,34	1,73	10,36
Clonazepam	$y=0,0485x-0,0212$	2	-14,13	1,40	7,33
		50	4,99	1,30	14,45
		200	4,69	1,79	10,70
Clonazolam	tagesaktuelle Kalibrierung	2	-	-	-
		50	9,48	0,94	8,08
		200	-8,64	1,28	5,44

Substanz	Regressions- funktion	QC [ng/mL]	Bias [%]	Wiederhol- präzision [%]	Labor- präzision [%]
Cloniprazepam	y=0,0435x-0,0127	2	1,00	1,58	10,10
		50	-	-	-
	y=0,0702x-0,4979	200	12,79	3,25	8,39
Delorazepam	y=0,0570x+0,0373	2	18,36	2,50	8,25
		50	7,03	3,94	14,48
		200	4,85	0,60	9,21
Desalkyl- flurazepam	y=0,0547x-0,0791	2	-	-	-
		50	1,81	1,66	7,68
		200	6,37	1,62	5,16
Diazepam	y=0,3048x-0,3445	2	-	-	-
		50	0,40	2,75	8,63
		200	1,30	1,03	5,16
Etizolam	y=-7E-05x <sup>2</sup> + 0,0448x+0,0103	2	13,14	0,96	3,70
		50	3,04	1,87	14,11
		200	2,48	1,31	10,03
Flubromazolam	y=0,0255x+0,0080	2	14,98	2,05	10,35
		50	9,31	1,66	13,43
		200	-6,22	1,51	7,36
Flunitrazepam	y=0,0531x-0,0456	2	-43,21	2,95	13,77
		50	2,47	3,00	11,78
		200	3,81	1,00	8,22
Flunitrazolam	y=0,0410x+0,0631	2	12,24	4,22	19,90
		50	78,49	3,16	36,15
		200	7,94	2,62	15,10
Ketazolam	y=0,0523x-0,0817	2	-	-	-
		50	-5,08	3,43	26,40
		200	-8,97	2,15	21,81
Lorazepam	y=0,0716x-0,0817	2	-49,36	3,11	23,63
		50	2,12	1,93	11,48
		200	4,87	2,00	6,77

Substanz	Regressions- funktion	QC [ng/mL]	Bias [%]	Wiederhol- präzision [%]	Labor- präzision [%]
Lormetazepam	$y=0,2275x+0,0284$	2	-7,95	3,42	14,62
		50	-	-	-
	$y=0,2601x-0,257$	200	-4,05	1,84	12,40
Meclonazepam	tagesaktuelle Kalibrierung	2	-	-	-
		50	17,71	2,53	21,11
		200	6,23	2,21	8,91
Metizolam	$y=0,0352x+0,0063$	2	2,98	1,30	8,31
		50	7,98	1,45	10,53
		200	-10,32	1,35	4,67
Midazolam	$y=0,0435x-0,0655$	2	-	-	-
		50	-0,06	3,08	10,82
		200	1,13	1,14	6,78
N-Desmethyl- flunitrazepam	$y=0,0525x-0,0435$	2	-34,54	1,14	12,54
		50	4,50	2,08	12,52
		200	5,99	2,42	7,81
N-Desmethyl- zopiclon	$y=0,0569x+0,0875$	2	-	-	-
		50	7,33	2,87	9,65
		200	8,53	2,19	7,65
Nifoxipam	$y=0,0107x-0,1246$	2	-	-	-
		50	-19,71	4,12	15,85
		200	2,55	1,96	11,38
Nimetazepam	tagesaktuelle Kalibrierung	2	-	-	-
		50	1,31	1,44	10,11
		200	4,60	1,51	6,85
Nitrazepam	$y=0,0708x-0,1492$	2	-	-	-
		50	-0,08	2,95	10,73
		200	12,89	1,05	5,19
Nitrazolam	tagesaktuelle Kalibrierung	2	-	-	-
		50	6,09	1,26	6,47
		200	-14,76	1,03	6,28

Substanz	Regressions- funktion	QC [ng/mL]	Bias [%]	Wiederhol- präzision [%]	Labor- präzision [%]
Norclobazam	$y=0,0225x-0,0176$	2	-34,25	3,49	10,83
		50	2,11	2,55	11,50
		200	3,94	1,57	7,94
Nordazepam	$y=0,0800x-0,0777$	2	-	-	-
		50	-0,09	2,03	12,79
		200	1,95	1,94	8,57
Oxazepam	$y=0,0537x-0,0359$	2	-	-	-
		50	3,05	1,90	13,69
		200	4,86	1,81	9,65
Pivoxazepam	$y=0,3669x-1,1468$	2	-	-	-
		50	-4,36	1,90	12,53
		200	0,36	0,66	4,94
Pyrazolam	$y=0,0077x-0,0146$	2	-	-	-
		50	-8,03	1,73	12,11
		200	-8,37	2,60	12,02
Temazepam	$y=0,0526x-0,0433$	2	-	-	-
		50	0,88	2,40	14,49
		200	1,50	2,10	8,55
Zolpidem	$y=0,0828x-0,1136$	2	-	-	-
		50	-0,80	1,34	11,06
		200	4,39	1,95	10,87
Zopiclon	$y=0,0491x+0,0140$	2	-1,65	2,53	11,38
		50	3,39	1,58	13,57
		200	6,12	2,42	9,28
$\alpha$ -Hydroxy- alprazolam	$y=0,0046x-0,0126$	2	-	-	-
		50	7,32	2,70	19,44
		200	8,26	2,68	13,86
$\alpha$ -Hydroxy- midazolam	$y=0,0485x-0,0279$	2	-31,74	1,53	12,40
		50	3,58	0,94	9,91
		200	1,74	1,37	6,97

Tab. 41: Wiederfindungsraten, Extraktionsausbeuten und Matrixeffekte der BZD/Z-Drugs

Substanz	QC [ng/mL]	Wiederfindungs- rate	Extraktionsaus- beute	Matrixeffekt
3-Hydroxy- flunitrazepam	5	74 %	71 %	109 %
	20	97 %	90 %	113 %
	200	159 %	140 %	102 %
3-Hydroxy- phenazepam	5	74 %	65 %	114 %
	20	132 %	52 %	168 %
	200	52 %	100 %	53 %
7-Amino- flunitrazepam	5	121 %	75 %	150 %
	20	94 %	83 %	115 %
	200	100 %	98 %	104 %
Adinazolam	5	67 %	62 %	110 %
	20	92 %	93 %	109 %
	200	98 %	101 %	98 %
Alprazolam	5	76 %	73 %	106 %
	20	91 %	83 %	110 %
	200	99 %	100 %	99 %
Bromazepam	5	113 %	94 %	122 %
	20	97 %	89 %	110 %
	200	99 %	103 %	95 %
Clobazam	5	121 %	102 %	119 %
	20	91 %	88 %	105 %
	200	101 %	104 %	97 %
Clonazepam	5	92 %	74 %	125 %
	20	94 %	88 %	107 %
	200	99 %	101 %	98 %
Clonazolam	5	71 %	62 %	125 %
	20	95 %	82 %	124 %
	200	102 %	108 %	117 %

Substanz	QC [ng/mL]	Wiederfindungs- rate	Extraktionsaus- beute	Matrixeffekt
Cloniprazepam	5	113 %	126 %	86 %
	20	92 %	99 %	93 %
	200	101 %	108 %	97 %
Delorazepam	5	75 %	62 %	122 %
	20	114 %	111 %	105 %
	200	99 %	101 %	100 %
Desalkyl- flurazepam	5	113 %	98 %	135 %
	20	100 %	112 %	110 %
	200	101 %	102 %	97 %
Diazepam	5	96 %	79 %	122 %
	20	95 %	90 %	106 %
	200	99 %	99 %	101 %
Etizolam	5	111 %	99 %	113 %
	20	96 %	96 %	101 %
	200	102 %	97 %	106 %
Flubromazolam	5	75 %	71 %	107 %
	20	93 %	86 %	109 %
	200	99 %	102 %	98 %
Flunitrazepam	5	97 %	81 %	121 %
	20	94 %	88 %	107 %
	200	99 %	102 %	98 %
Flunitrazolam	5	66 %	124 %	79 %
	20	95 %	81 %	110 %
	200	101 %	104 %	97 %
Ketazolam	5	80 %	59 %	123 %
	20	99 %	102 %	106 %
	200	114 %	105 %	117 %
Lorazepam	5	95 %	81 %	119 %
	20	99 %	93 %	107 %
	200	100 %	100 %	99 %

Substanz	QC [ng/mL]	Wiederfindungs- rate	Extraktionsaus- beute	Matrixeffekt
Lormetazepam	5	89 %	100 %	95 %
	20	100 %	88 %	119 %
	200	100 %	101 %	102 %
Meclonazepam	5	82 %	116 %	42 %
	20	101 %	81 %	152 %
	200	102 %	103 %	113 %
Metizolam	5	76 %	67%	114 %
	20	95 %	88 %	109 %
	200	99 %	102%	98 %
Midazolam	5	96 %	75 %	124 %
	20	91 %	91 %	100 %
	200	99 %	101 %	98 %
N-Desmethyl- flunitrazepam	5	91 %	74 %	124 %
	20	94 %	88 %	108 %
	200	99 %	99 %	99 %
N-Desmethyl- zopiclon	5	76%	62 %	125 %
	20	91 %	84 %	110 %
	200	98 %	102 %	97 %
Nifoxipam	5	-	-	101 %
	20	-	-	88 %
	200	99 %	101 %	102 %
Nimetazepam	5	98 %	214 %	47 %
	20	101 %	81 %	138 %
	200	102 %	111 %	93 %
Nitrazepam	5	95 %	75 %	124 %
	20	97 %	86 %	113 %
	200	99 %	102 %	99 %
Nitrazolam	5	62 %	99 %	78 %
	20	97 %	89 %	110 %
	200	100 %	102 %	100 %

Substanz	QC [ng/mL]	Wiederfindungs- rate	Extraktionsaus- beute	Matrixeffekt
Norclobazam	5	89 %	76 %	117 %
	20	94 %	87 %	109 %
	200	99 %	99 %	99 %
Nordazepam	5	113 %	86 %	120 %
	20	92 %	87 %	106 %
	200	101 %	101 %	101 %
Oxazepam	5	106 %	71 %	122 %
	20	92 %	84 %	111 %
	200	100 %	102 %	98 %
Pivoxazepam	5	89 %	86 %	104 %
	20	85 %	92 %	93 %
	200	97 %	102 %	97 %
Pyrazolam	5	88 %	75 %	117 %
	20	91 %	87 %	104 %
	200	100 %	105 %	96 %
Temazepam	5	102 %	87 %	118 %
	20	92 %	87 %	106 %
	200	100 %	102 %	99 %
Zolpidem	5	107 %	83 %	124 %
	20	96 %	91 %	106 %
	200	100 %	102 %	98 %
Zopiclon	5	87 %	72 %	121 %
	20	93 %	88 %	107 %
	200	98 %	103 %	96 %
$\alpha$ -Hydroxy- alprazolam	5	158 %	176 %	75 %
	20	90 %	105 %	82 %
	200	110 %	108 %	103 %
$\alpha$ -Hydroxy- midazolam	5	104 %	79 %	125 %
	20	90 %	87 %	103 %
	200	99 %	100 %	99 %



## 8.5 Publikationsliste

### Während der Promotionszeit veröffentlichte Arbeiten

#### In Zeitschriften

R. Kegler, **C. Lehmann**, D. Rentsch, M. Blömker und A. Büttner. Bestimmung endogener GHB-Konzentrationen in Haaren, Toxichem Krimtech, Jahrgang 42, Band 85(3), Seiten 110-116, 2018

#### Vorträge

- **C. Lehmann**. Spice - im Dschungel der Kräutermischungen. wissenschaftlicher Beitrag zu den Trinkversuch-Seminaren der Juristischen Fakultät der Universität Rostock, 2017, Rostock, Deutschland
- **C. Lehmann**. Spice - im Dschungel der Kräutermischungen, Vortrag im Rahmen der BADS-Tagung. 2017, Rostock, Deutschland
- R. Kegler, **C. Lehmann**. Bestimmung von 5F-ADB aus Leichenasservaten sowie von GHB aus Haaren mittels LC-ESI-MS/MS, Stationsbeitrag Workshop der GTFCh, 2017, Rostock, Deutschland
- **C. Lehmann**. Forensische Toxikologie im BLR. Fachtagung Rauschgiftkriminalität, 2018, Oranienburg, Deutschland
- **C. Lehmann**. Forensische Toxikologie im BLR. Seminar Rechtsmedizin an der Juristischen Fakultät Universität Potsdam, 2018 und 2019, Potsdam, Deutschland
- **C. Lehmann**. Health hazards after consuming the synthetic cannabinoid 5F-ADB. Conference on Novel Psychoactive Substances, 2019, Maastricht, Niederlande
- **C. Lehmann**, S. Weniger, P. Böhme. Analytik Gase und flüchtiger organischer Verbindungen. GTFCh Arbeitsstreffen der Toxikologen Berlin-Brandenburg, 2019, Potsdam, Deutschland

#### Posterbeiträge auf Konferenzen

R. Kegler, **C. Lehmann**, D. Rentsch and A. Büttner. Systematic investigation of cocaine-positive samples with regard to the presence of adulterants in Mecklenburg from 2010 to 2012. 92. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Rechtsmedizin, 2013, Saarbrücken

R. Kegler, **C. Lehmann**, D. Rentsch and A. Büttner. Validierung einer UHPLC-MS/MS-Methode zum quantitativen Nachweis von Ethylglucuronid aus Urin, 20. Frühjahrstagung Region Nord der Deutschen Gesellschaft für Rechtsmedizin, 2016, Rostock

**C. Lehmann**, R. Kegler, V. Angerer, A. Büttner, and D. Rentsch. Identification and quantification of synthetic cannabinoids in herbal mixtures. 96. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Rechtsmedizin und X. ISALM, 2017, Düsseldorf/Köln

**C. Lehmann**, R. Kegler, A. Büttner, and D. Rentsch. A potpourri of new psychoactive substances. 96. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Rechtsmedizin und X. ISALM, 2017, Düsseldorf/Köln

R. Kegler, F. Möller, D. Rentsch, **C. Lehmann**, and A. Büttner. Quantitative analysis of 37 BZD/Z-Drugs and two Z-drugs by LC-MS/MS. 96. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Rechtsmedizin und X. ISALM, 2017, Düsseldorf/Köln

R. Kegler, M. Blömker, D. Rentsch, **C. Lehmann**, H. Andresen-Streichert, and A. Büttner. Quantitative analysis of GHB in hair samples by a highly sensitive LC-MS/MS method. 96. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Rechtsmedizin und X. ISALM, 2017, Düsseldorf/Köln

R. Kegler, **C. Lehmann**, J. Manhart, A. Büttner, and Daniel Rentsch. The synthetic cannabinoid 5F-ADB and its health hazard, 20<sup>th</sup> Nordic Conference on Forensic Medicine and 4<sup>th</sup> Annual Meeting of the Nordic Association of Forensic Toxicologists, 2018, Helsinki

R. Kegler, **C. Lehmann**, M. Blömker, D. Rentsch, and A. Büttner. Concentrations of GHB in hairs: Differentiation between endogenous and exogenous GHB levels. 20<sup>th</sup> Nordic Conference on Forensic Medicine and 4<sup>th</sup> Annual Meeting of the Nordic Association of Forensic Toxicologists, 2018, Helsinki

R. Kegler, D. Rentsch, R. Einsle, **C. Lehmann** und A. Büttner. Abstinenzuntersuchungen im Rahmen der Führungsaufsicht und Bewährungshilfe (2013-2018). 98. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Rechtsmedizin, Hamburg

R. Kegler, A. Büttner, D. Boy, A. Port, V. Blaas, S. Nigbur, **C. Lehmann**, J. Nowotnik, R. Einsle, B. Schmidt und J. Manhart. Statistische Betrachtungen der Trinkversuche am Institut für Rechtsmedizin in den Jahren 2015 bis 2018. 98. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Rechtsmedizin, Hamburg